

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1940-1941. — N° 8

LE VIRUS DE Paul DURAND

Nouveau virus filtrant
à affinités méningée et pulmonaire
Pathogène pour l'homme et les animaux
de laboratoire

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 8 Novembre 1940

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MEDECINE

PAR

Michel TROUILLER

Né le 29 Mai 1912, à Valence (Drôme).



IMPRIMERIE DE TRÉVOUX

G. PATISSIER

—
1940

LE VIRUS DE Paul DURAND



Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1940-1941. — N° 8

LE VIRUS DE Paul DURAND

Nouveau virus filtrant
à affinités méningée et pulmonaire
Pathogène pour l'homme et les animaux
de laboratoire

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 8 Novembre 1940

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Michel TROUILLER

Né le 29 Mai 1912, à Valence (Drôme).



IMPRIMERIE DE TRÉVOUX
G. PATISSIER

1940

PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyen honoraire	M. L. HUGOUNENQ
Doyen	M. J. LEPINE
Assesseur	M. A. MOREL

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. LANNOIS, HUGOUNENQ, PIC, CONDAMIN,
PAVIOT, NICOLAS, VILLARD, NOVE-JOSSERAND, TIXIER, COLLET, GAYET, CLUZET
BERARD, COURMONT, GUIART, PIERY

PROFESSEURS

Cliniques médicales	MM. FROMENT
Cliniques chirurgicales	SAVY
Clinique obstétricale et Accouchements	PATEL
Clinique ophtalmologique	LÉRICHE (en mission)
Cliniques dermatologique et syphiligraphique	VORON
Clinique neurologique et psychiatrique	BONNET
Clinique médicale infantile	FAVRE
Clinique gynécologique	LEPINE (J.)
Clinique Oto-rhino-laryngologique	MOURIQUAND
Clinique urologique	COTE
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	REBATTU
Clinique et prophylaxie de la tuberculose	CIBERT
Clinique des maladies infectieuses	TAVERNIER
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie	X...
Chimie biologique et médicale	CHALIER (J.)
Chimie organique et Toxicologie	PONTHUS
Matière médicale et Botanique	FLORENCE
Parasitologie et Histoire naturelle médicale	MOREL
Anatomie	MANCEAU
Histologie	X...
Physiologie	LATARJET
Pathologie interne	POLICARD
Pathologie générale et thérapeutique	HERMANN
Anatomie pathologique	CORDIER
Chirurgie opératoire	CADE
Médecine expérimentale et comparées et Bactériologie ...	J. F. MARTIN
Médecine légale	SANTY
Hygiène	ARLOING (F.)
Pharmacie et Pharmacologie	MAZEL
Hydrologie thérapeutique et Climatologie	ROCHAIX
	LEULIER
	X...

PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Chargé d'un Cours d'Anatomie médico-chirurgicale	MM. THEVENOT (Léon)
Chargé d'un cours d'Embryologie	NOEL

AGREGES

MM.	MM.	MM.	MM.
GABRIELLE	P. RAVAUT	CLAVEL	FROMENT (R.)
CHAMBON	CROIZAT	LEVRAT	MARTIN (P.-E.)
REVOL	DELORE	BANSSILLON	MOUNIER-KUHN
ENSELME	JOSSERAND	MALLET-GUY	BROUSSY
SEDALLIAN	MORIN	ROMAN	PIFFAULT
CREYSSEL	PIGEAUD	PEYCELON	
DE ROUGEMONT	BERTRAND	JOURDAN	

Examineurs de la Thèse

M. J. CHALIER, *Président.*

MM. DEVIC, GATÉ, SEDALLIAN, *Assesseurs.*

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MES GRANDS-PARENTS

LE DOCTEUR EUGÈNE DUTRAIT

ANCIEN INTERNE DES HÔPITAUX DE LYON

Sa vie médicale ne fut qu'un long
dévouement.

MAURICE TROUILLER

PROFESSEUR A LA FACULTÉ DE DROIT DE GRENOBLE

A MON PÈRE

PREMIER PRÉSIDENT HONORAIRE

Le respect dont il a toujours été entouré au cours de sa carrière est dû à son savoir et à son sens profond de l'honneur.

Les principes qu'il a su nous enseigner, associés à une inégalable bonté resteront toujours pour ses enfants le guide le plus sûr. L'affection dont nous l'entourons n'est qu'un faible témoignage de reconnaissance à côté de ce qu'il a su nous donner.

A MA MÈRE

Elle n'a eu qu'un but dans la vie :
les siens.

Son dévouement sans borne et sa grande tendresse dominée par une sensibilité exquise feront facilement comprendre l'amour profond de ses enfants pour elle.

A MES SEPT FRÈRES ET SŒURS

A MES BEAUX-FRÈRES, BELLES-SŒURS

A MON ONCLE,

LE DOCTEUR LOUIS LAMBERT
ANCIEN INTERNE DES HÔPITAUX DE LYON

Il n'a cessé de nous guider de ses conseils et de nous faire profiter de sa grande expérience pendant notre préparation à l'Externat et à l'Internat. Une grande part de nos succès lui reviennent ; qu'il en soit remercié.

A MA MARRAINE,

MADemoisELLE ELISABETH REBOULET
INFIRMIÈRE-MAJOR
CROIX DE GUERRE 1914-18
ORDRE DE LA COURONNE DE BELGIQUE
MÉDAILLES DES CAMPAGNES DU MAROC ET DE SYRIE

Elle s'est consacrée à sa tâche jusqu'à la limite de ses forces.

A MONSIEUR LE DOCTEUR PAUL DURAND

ANCIEN CHEF DE CLINIQUE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE LYON
CHEF DE LABORATOIRE A L'INSTITUT PASTEUR DE TUNIS

Il nous a fait un grand honneur en nous confiant pour sujet de cette thèse l'étude d'un virus qui lui appartient doublement.

Pendant les longs mois où il nous a accueilli avec une grande sollicitude dans son laboratoire, il nous a été donné d'apprécier son dévouement et sa science de la bactériologie.

Notre reconnaissance et notre profond respect lui sont à jamais acquis.

A MES AMIS

A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE,

MONSIEUR LE PROFESSEUR JOSEPH CHALIER

PROFESSEUR DE CLINIQUE DES MALADIES INFECTIEUSES

Nous avons retiré un profit immense des nombreux stages effectués dans son service tant comme externe que comme suppléant d'interne.

Nous garderons un souvenir impérissable de ses leçons au lit du malade où il nous a été donné d'admirer ses hautes qualités de clinicien.

Il nous a en maintes circonstances assuré de sa sympathie.

Qu'il veuille bien trouver ici le témoignage de notre admiration et de notre reconnaissance.

AUX MEMBRES DE NOTRE JURY

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ DEVIC

MÉDECIN DES HÔPITAUX

Il nous a toujours accueilli avec beaucoup de sollicitude dans son service.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ GATÉ

MÉDECIN DES HÔPITAUX

Il nous a été donné à plusieurs reprises d'apprécier la clarté et la précision de son enseignement.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ SEDALLIAN

MÉDECIN DES HÔPITAUX

Qu'il soit remercié d'avoir bien voulu faire partie de notre Jury de thèse.

A MONSIEUR LE DOCTEUR BURNET,
DIRECTEUR DE L'INSTITUT PASTEUR DE TUNIS

Nous le remercions de l'amabilité
avec laquelle il nous a accueilli à
l'Institut Pasteur de Tunis.

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX

Externat :

MONSIEUR LE DOCTEUR DESJACQUES.
MONSIEUR LE DOCTEUR RICARD.
MONSIEUR LE PROFESSEUR BÉRARD.
MONSIEUR LE DOCTEUR GRAVIER.
MONSIEUR LE PROFESSEUR CHALIER.
MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ RHENTER.

Internat (1940) :

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ POLOSSON.

A MES CONFERENCIERS

Jean GONNET (*in memoriam*).

Le Docteur GIGNOUX, Ancien Chef de clinique O.R.L. à la
Faculté.

Assistant O.R.L. des Hôpitaux.

Le Docteur ROMAGNY, Chef de clinique médicale à la Faculté.

Le Docteur PERRIN, Moniteur de clinique urologique à la
Faculté.

A MES CAMARADES DE L'INTERNAT DE LYON

ORIGINE DU VIRUS

Le nombre des virus susceptibles de provoquer chez l'animal des manifestations encéphalo-méningées augmente constamment. Heureusement, quelques-uns ne peuvent passer de nos « frères inférieurs » à l'espèce humaine, ou n'attaquent cette dernière qu'en des organes moins prééminents que le système nerveux central. L'intérêt croissant qui s'attache aux diverses encéphalites, à ces méningites qui ne figuraient pas dans les traités de médecine d'il y a seulement quelques années, mesure cependant toute l'importance des agents neuro ou méningotropes pathogènes pour l'homme et les animaux.

Ce tropisme spécial aide à mettre ces virus en évidence par le tableau clinique particulier qu'il provoque : Henri Bouchet n'aurait peut-être pas individualisé la maladie des porchers, s'il n'avait eu l'heureuse surprise de constater l'inexactitude de son pronostic chez des sujets paraissant atteints de méningite tuberculeuse.

Mais l'affinité pour les tissus nerveux ne se satisfait pas toujours et les essais de pyrétothérapie faits par

P. Durand ont bien montré qu'une même souche de virus de la maladie de Bouchet, à côté des formes typiques, en détermine un plus grand nombre dans lesquelles rien ne peut permettre de soupçonner une lésion méningée.

Il est fort probable qu'il en est de même pour d'autres virus, et en particulier pour celui de la chorio-méningite lymphocytaire. Armstrong et Wooley, Traub, Findlay, Alcock et Stern admettent des maladies inapparentes chez l'homme, qui, après des contacts avec des animaux infectés ou des malades, peut présenter des anti-corps dans son sang sans avoir jamais souffert d'aucune sorte. P. Lépine et Kreis, sur la base également de leurs essais de pyrétothérapie, décrivent des formes « grippales » au cours desquelles la ponction lombaire elle-même n'apporte pas la preuve de la participation des méninges.

Le virus que nous étudions dans ce travail, voisin à bien des égards de celui de la chorio-méningite, mais en différant cependant, se montre doué d'affinités méningées pour certaines espèces animales et non pour d'autres, et capable de déterminer chez l'homme des maladies, avec ou sans réaction des enveloppes cérébrales.

L'origine immédiate en est une affection dont fut atteint P. Durand en juin 1939 et dont la courbe ci-jointe (fig. 1) représente l'évolution fébrile.

Début dans l'après midi du 21 juin par une sensation de très grande lassitude, alors que l'état de santé des jours précédents était satisfaisant en dépit d'un peu de surmenage. Disparition de l'appétit au repas du soir, insomnie complète dans la nuit.

Le lendemain matin, une tentative de travail au laboratoire doit être rapidement interrompue et l'alitement s'impose mal-

gré une température relativement peu élevée. Le tableau clinique se complète par l'apparition de douleurs musculaires erratiques qui cèdent au bout de 3 ou 4 jours, d'une céphalée assez supportable et d'une constipation opiniâtre, plutôt rare chez un amibien chronique.

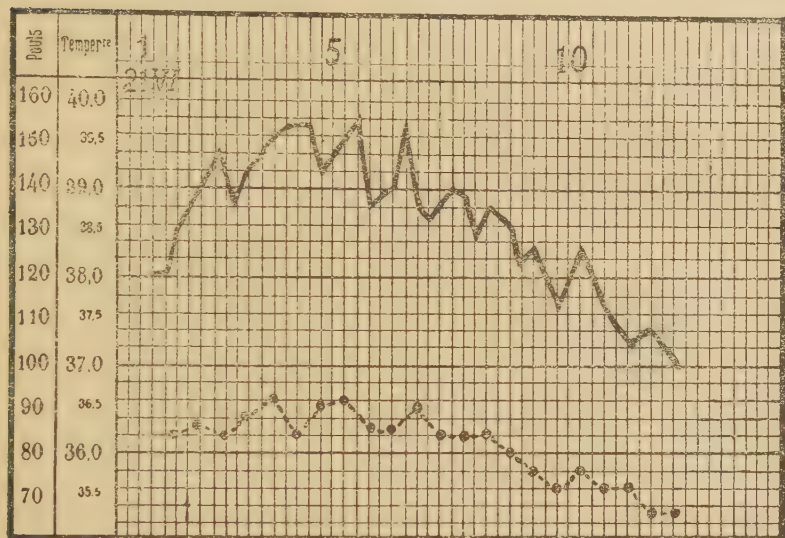


FIGURE 1.

Dès le 3^e jour, l'examen met en évidence un petit nombre de symptômes objectifs, qui resteront tels jusqu'à la fin de la maladie. Il y a absence totale de signes anormaux respiratoires et circulatoires, le pouls est plutôt lent par rapport à la température et bien frappé. Le cœur se comporte bien. La langue est à peine chargée, l'abdomen souple, non douloureux. Pas d'hypertrophie du foie ni de la rate. Aucun signe objectif d'ordre neurologique, en particulier pas de Kernig, pas de modification des divers réflexes, pas de conjonctivite,

de diplopie ou d'autres troubles oculaires. Pas d'angine, pas d'hypertrophie ganglionnaire, pas d'éruption, pas d'albuminurie.

Ce qui domine la scène, c'est la fièvre, la constipation et l'insomnie. Bien que n'ayant jamais atteint 40°, la température reste assez élevée pendant la plus grande partie de la journée. Elle ne baisse qu'une heure ou deux dans la matinée et remonte rapidement pour atteindre son maximum vers minuit. Elle ne s'accompagne pas de frissons, ni de sudation exagérée malgré la température extérieure très élevée.

La constipation est opiniâtre et ne cède qu'à peine à des lavements répétés. L'anorexie est complète ; ni vomissements, ni nausées, ni douleurs abdominales.

Enfin l'insomnie extrêmement pénible est totale ; elle résiste aux divers hypnotiques, qui n'amèneront le sommeil qu'après la disparition de la fièvre. Cette insomnie s'accompagne de représentations multiples, se succédant très rapidement et dont le caractère d'irréalité et d'absurdité nous apparaît évident au moment même où elles défilent dans notre esprit. L'insomnie et son cortège d'images illogiques restera le souvenir le plus désagréable de cette maladie.

L'évolution cyclique de l'affection se déroule en 11 jours. Malgré une perte de poids de 7 à 8 kilogrammes et une asthénie assez prononcée durant les premiers jours de la convalescence, l'état général s'améliore assez rapidement ; la constipation disparaît avec la fièvre ; seul un certain degré d'insomnie persiste pendant plus de deux mois.

Devant un pareil tableau clinique, on fait rapidement appel au laboratoire pour parvenir à un diagnostic, d'autant plus que le patient, au cours des semaines précédentes a été sans cesse exposé à une contamination massive par les divers virus typhiques, et dans des conditions telles qu'une atteinte de typhus murin survenue en 1934 ne peut faire exclure de façon certaine une réinfection par le virus historique.

Dès la 48^e heure de la maladie, on fait des hémocultures en divers milieux, des séro-diagnostic, des inoculations au co-

baye et au rat. Les hémocultures restent stériles. Les séro-diagnostic, pratiqués à plusieurs reprises jusqu'au 9 juillet, ne montrent pas la moindre agglutination anormale avec les bacilles typhique et paratyphique, avec le *M. melitensis* ou le *B. proteus* O X 19.

Par contre, l'inoculation de sang dans le péritoine des trois cobayes D 52, D 53 et D 54 permet d'isoler le virus responsable de l'affection.

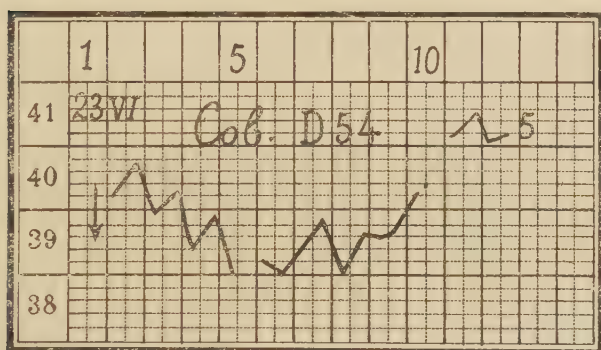


FIGURE 2.

Le cobaye D 54 (fig. 2) dépasse 40° le 10^e jour et 41° les deux jours suivants. Sacrifié le 12^e jour, il présente une grosse rate et des zones nettes d'hépatisation pulmonaire. Un mélange de sang et de rate du cobaye D 54 permet de commencer une série de nombreux passages de cobaye à cobaye et à d'autres animaux, passages qui constituent la base de l'étude du virus, que nous appellerons virus D pour la commodité de l'exposition. Les cobayes D 52 et D 53, abandonnés à l'évolution naturelle de la maladie, font de la fièvre à partir du 7^e et du 11^e jours. Ils meurent le 21^e et le 28^e jour, en présentant des lésions analogues à celles de D 54. Malheureusement,

les cadavres sont recueillis en mauvais état, et incapables de donner matière à des inoculations.

Les deux rats 834 sm. et 834 ord., inoculés en même temps que les trois cobayes, n'ont rien présenté d'anormal.

L'examen du sang du 23 juin atteste l'absence d'hématozoaires et donne la formule suivante :

Poly. neutro.	58 %
Poly. éosino.	1 %
Poly. baso.	0 %
Grands mono.	3 %
Grands lympho.	12 %
Petits lympho.	26 %

alors que la formule habituelle est :

Poly. neutro.	70 %
Poly. éosino.	2 %
Grands mono.	1 %
Grands lympho.	19 %
Petits lympho.	8 %

Réservant pour des chapitres ultérieurs la démonstration des rapports du virus et de la maladie dont l'observation vient d'être exposée, ainsi que la source possible de la contamination, nous allons décrire d'abord le comportement de l'agent infectieux chez les animaux de laboratoire, ainsi que ses principaux caractères.

ETUDE EXPERIMENTALE DU VIRUS

Un assez grand nombre d'animaux sont sensibles au virus que nous décrivons. Tous n'ont pas la même importance dans son étude. Le cobaye permet d'en établir la plupart des caractères et en constitue le vrai réactif dans le travail journalier. Le singe, qui a le mérite de se rapprocher de l'homme, et le chien, qui a celui d'être plus largement utilisable que le singe, facilitent l'étude *in vivo* des réactions méningées. La souris enfin par la façon quasi muette dont elle se comporte à son égard présente un très grand intérêt pour distinguer le virus D de celui de la chorio-méningite lymphocytaire auquel elle répond de façon si caractéristique.

Le rat, le mériion, le lapin ont moins de raison d'être utilisés couramment. Il n'en serait peut-être pas de même du hamster, si cet animal était plus abondant dans les laboratoires.

LA MALADIE EXPERIMENTALE DU COBAYE

Le cobaye « prend » le virus D par la plupart des voies : péritonéale, sous-cutanée, cutanée, musculaire, respiratoire, cérébrale, méningée, oculaire. La voie sous-cutanée est très sensible et donne lieu aux lésions les plus caractéristiques. Elle doit être préférée, à moins d'indication contraire ; c'est elle que nous étudierons le plus longuement en signalant ensuite les particularités propres aux autres voies d'inoculation.

VOIE SOUS-CUTANÉE.

Le cobaye inoculé sous la peau de la patte postérieure avec une dilution allant en poids de 1/10 à un millionième et plus d'un organe virulent, présente, après une certaine incubation, une fièvre élevée de plusieurs jours de durée, accompagnée de symptômes au point d'inoculation. Il maigrit, paraît manifestement malade et meurt parfois au déclin de sa fièvre.

L'autopsie du cobaye, mort ou sacrifié au cours de sa maladie montre un œdème hémorragique entourant une zone centrale de fonte nécrotique des tissus qui ont reçu l'injection, une hypertrophie ganglionnaire, une hypertrophie de la rate, des lésions pulmonaires consistant en congestion et surtout en zones limitées d'hépatisation.

Le sang et tous les organes du cobaye sont virulents.

Incubation. — Elle est de durée variable. De 6, 9 et 10 jours pour les cobayes inoculés avec le sang du malade elle tombe à 6, 4, 3 et 2 jours chez ceux du premier

passage. Dans la suite, elle varie avec la quantité de matériel virulent utilisé, avec le temps et les conditions de conservation du virus, et toutes choses d'ailleurs, avec un facteur individuel des cobayes. Lorsque les passages se font avec 1 cc. de sang frais défibriné ou non, elle est en général de 3 à 4 jours, et de 3 à 6 avec une émulsion à 1 pour 100 d'une rate conservée 24 heures à -15° . Elle peut paraître nulle lorsqu'un animal, inoculé l'après-midi de façon massive avec un virus très actif dépasse 40° dès le lendemain matin. Quand le virus est dilué, l'incubation s'allonge, mais le facteur individuel empêche qu'il y ait une progression tout à fait régulière.

Pour une émulsion de rate fraîche du cobaye T 78, légèrement centrifugée et inoculée à dose de 1 cc. sous la peau d'une série de cobayes, on note les incubations suivantes : 30 heures à 10^{-1} , 56 heures à 10^{-2} et 10^{-3} , six jours à 10^{-5} et 10^{-6} . Dans une autre série d'expériences, les chiffres sont un peu différents, malgré un matériel tout à fait analogue (rate du cobaye M 31) : 4 jours à 10^{-2} et 10^{-3} , 9 jours à 10^{-5} , 8 jours à 10^{-6} , 11 jours à 10^{-7} . Avec le sang des mêmes animaux aux mêmes doses, l'apparition de la fièvre retarde de 2 à 3 jours en moyenne et de 3 à 5 avec le cerveau.

Lorsque les conditions de conservation du matériel virulent sont bonnes, la durée de celle-ci, à condition de ne pas dépasser certaines limites, influe assez peu sur la longueur de l'incubation. Ainsi un centigramme du cerveau du Rhesus 117 conservé à 15° donne au cobaye V. 61 la fièvre au bout de 58 heures, c'est-à-dire aussi rapidement qu'il le faisait au cobaye M. 13, 115 jours auparavant. Par contre, si les conditions de conservation sont moins bonnes, et cela est vrai surtout pour les rates du

cobaye maintenues à la même température, mais sous un volume forcément moindre, la fièvre tarde de plus en plus à paraître au cours des passages successifs faits avec les divers fragments d'un même organe.

La plus longue incubation constatée est de 23 jours (cob. M. 32 inoculé avec du cerveau de cobaye). Il s'agit là d'un fait exceptionnel ; si les incubations de plus de 10 jours sont déjà assez rares, celles d'une quinzaine le sont bien plus.

Les caractéristiques de l'incubation de notre virus chez le cobaye ont une valeur certaine. Elles sont approximativement celles de la chorio-méningite chez le même animal. Ni le typhus historique, ni le typhus murin ne connaissent des délais aussi courts, du moins quand les passages se font de cobaye à cobaye.

La détermination de la durée maxima de l'incubation conditionne les épreuves d'immunité, qu'il conviendra de ne commencer que 25 à 30 jours au moins après l'inoculation première.

Fièvre. — La fièvre marque la fin de l'incubation. Elle dure le plus souvent de 6 à 10 jours et atteint ou dépasse 41 degrés. Elle peut être plus longue (jusqu'à 17 jours) ou plus courte, évoluer en une seule fois ou en deux poussées successives, parfois de façon encore plus irrégulière. Elle peut ne dépasser la température normale que de quelques dixièmes de degré et pendant à peine quarante-huit heures.

Les formes moyennes prolongées ou un peu raccourcies sont de règle au cours des passages effectués de cobaye à cobaye avec des doses importantes d'organes

en pleine virulence. Mais l'inoculation est faite parfois pour vérifier l'existence du virus dans certaines humeurs, dans des organes prélevés en dehors de la période fébrile ou provenant d'espèces peu sensibles, dans des émulsions passées au travers de filtres serrés ou encore soumises à l'action d'antiseptiques ; elle aboutit alors fréquemment à des fièvres courtes, larvées, atypiques et même à une maladie inapparente, toutes formes qui doivent témoigner de leur identité réelle par un passage positif ultérieur au cobaye ou par l'épreuve d'immunité consécutive.

La fièvre cède le plus souvent progressivement. Une température élevée qui tombe très au-dessous de 39° en 24 ou 48 heures annonce la mort de l'animal.

Un coup d'œil jeté sur la fig. 3 fera mieux comprendre que toute description à quoi correspondent ces diverses formes.

En allant de haut en bas et de gauche à droite, les cobayes qui ont fourni ces courbes ont reçu sous la peau 1 cc. d'émulsion de rate de cobaye à 1/10, à 1/1.000, à 1/1.000.000, 1 cc. de sang de cobaye, 1 cc. d'émulsion de rate à 1/100, 1 cc. de sang de cobaye à 1/100.000, de poumon de cobaye à 1/10.000. Les trois derniers ont reçu un cerveau entier de souris, un demi-poumon de souris, un cerveau entier de rat. Tous ces cobayes ont donné, s'ils sont morts, de nouveaux passages positifs à partir de leur sang et de leur rate ; s'ils ont survécu, ils ont subi sans réagir une inoculation d'épreuve positive pour les témoins. Quant au cobaye M 28, dont la maladie a été inapparente, son sang prélevé le 11^e jour a donné une fièvre typique aux 2 cobayes M 42 (1 cc.) et M 43 (2 cc.) ; éprouvé 53 jours après l'inoculation première, M 28 s'est montré immun.

Action locale du virus. — En général, dès les premiers jours de la fièvre, parfois un peu plus tard, exceptionnellement avant l'apparition de cette dernière et surtout lorsqu'elle est tardive, le cobaye inoculé sous la peau de la patte postérieure présente une inflammation de la région inguinale. Elle est le plus souvent très marquée, suffisante pour immobiliser au moins relativement la patte pendant la marche de l'animal et pour lui donner au repos une attitude en flexion exagérée, qui contraste avec celle de la patte symétrique. La palpation, manifestement douloureuse, montre un empâtement plus ou moins ferme et étendu, dans lequel on peut ou non percevoir un ganglion lymphatique hypertrophié. Avec le déclin de la fièvre l'empâtement régresse, le ganglion devient plus nettement perceptible, puis diminue à son tour et disparaît. Une dépilation locale est le dernier témoin des inflammations intenses. Les plus actives seules aboutissent à une nécrose cutanée et à une cicatrice gaufrée.

L'inflammation locale n'a manqué complètement que de façon tout à fait exceptionnelle. (Moins de 1 % des animaux). Elle a, dans l'ensemble, subi quelques fluctuations, suivant la cadence des passages du virus ; une période d'espacement de ces derniers amène un allongement de l'incubation et une diminution de l'action locale du virus, tandis que l'inverse suit une augmentation de leur fréquence.

A un moment donné et pour diverses doses de virus, il n'y a pas plus de rapport étroit entre l'intensité de l'inflammation sous-cutanée et la brièveté de l'incubation,

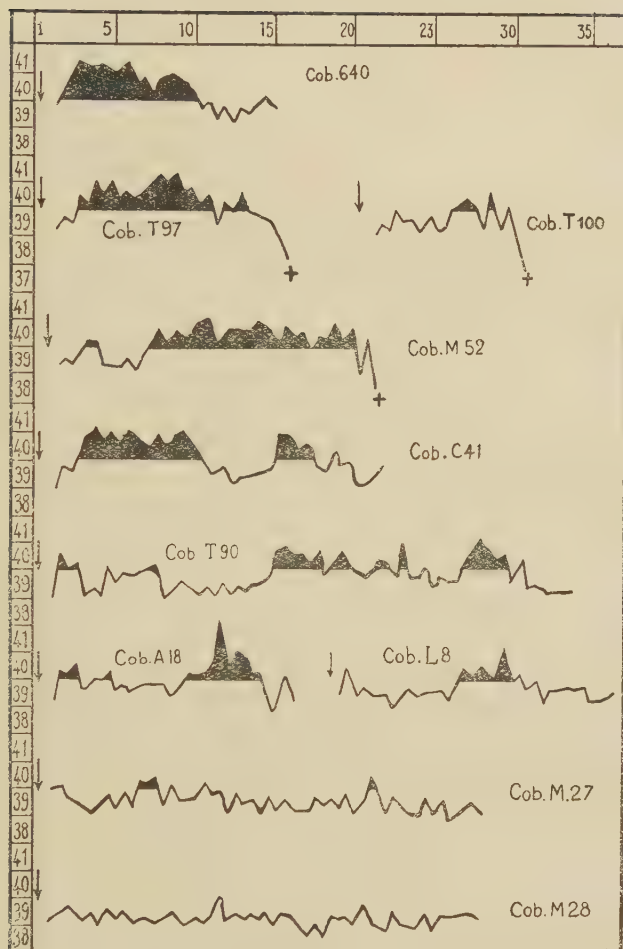


FIGURE 3.

qu'il n'y en a entre cette dernière et la longueur de la fièvre, quoique des symptômes locaux importants se rencontrent plus souvent au cours des fortes réactions thermiques.

Symptômes généraux. — Le cobaye fébrile porte presque toujours les marques de l'atteinte infectieuse. A l'immobilité, au hérissément des poils, à la perte de l'appétit, symptômes banals du cobaye malade, se joint bientôt un amaigrissement rapide et important. Plus tard, on constate éventuellement de la conjonctivite séropurulente, de la salivation exagérée, une dyspnée parfois extrême. Il n'y a jamais de diarrhée. Les manifestations nerveuses localisées manquent : la somnolence, l'asthénie, la faiblesse des pattes se rencontrent surtout chez les animaux qui font une hypothermie terminale.

L'amaigrissement est de tous ces symptômes le plus fréquent. Il est bien dû à l'action du virus, car il manque constamment chez les animaux immuns éprouvés. Commencant rarement avant l'élévation de la température, plus souvent dès les premiers jours de celle-ci, il continue quelque temps pendant l'apyrexie quand l'animal survit. Il est parfois très rapide.

Le cobaye M 31 pèse 610 grammes à l'inoculation. Incubation de 72 heures. Le poids est de 532 et 513 grammes les 3^e et 6^e jours de la fièvre.

L'amaigrissement qui manque dans les formes inapparentes peut cependant être important, malgré la brièveté de l'élévation thermique.

Le cobaye T.87 ne fait de fièvre que du 11^e au 13^e jour de l'inoculation avec un maximum de 40°6. Son poids passe

de 594 grammes à 567, 507, 478 et 490 grammes les 8^e, 12^e, 16^e, 21^e et 28^e jours.

La dyspnée est toujours liée à des lésions pulmonaires et en rapport avec leur intensité.

On peut encore, pendant le cours de la maladie, observer des modifications morphologiques ou chimiques du sang.

Formule sanguine.

Les six cobayes P 201, P 202, P 204, P 206, P 207 et P 209 sont inoculés sous la peau, le 8 juillet, chacun avec 1 cc. d'une émulsion à 1/100 de rate du cobaye M 219. Tous commencent leur fièvre au bout de 36 à 48 heures, à l'exception de P 209, pour lequel l'incubation dure 72 heures. Durée de la fièvre : 8 à 18 jours. L'examen des globules blancs donne les résultats suivants (pages 24 et 25) :

Malgré le peu de fixité du nombre des globules blancs et de leur formule chez le cobaye, il ressort de l'examen d'ensemble des données précédentes qu'à l'inoculation fait suite une hyperleucocytose très passagère, bientôt remplacée par une leucopénie. Puis à travers plusieurs oscillations assez larges le chiffre des globules blancs tend à revenir au point de départ. Les variations du nombre des polynucléaires accompagnent, souvent avec un certain retard, celles du nombre des globules. Il y a une courte poussée précoce coïncidant avec l'hyperleucocytose, puis une lymphocytose beaucoup plus prolongée atteignant de 75 à 90 %.

Cob. 201	Leucocytes	Poly. neutro	P. Eosino	P. Baso	Gds Monos	Petits et Gds lymphos
6/7	7.680	53	1	0	1	45
11/7	13.950	82	2	0	1	15
13/7	3.720	35	0	0	1	64
16/7	6.200	31	1	0	3	65
18/7	10.075	25	1	0	3	72
20/7	6.200	17	1	0	1	82
22/7	5.425	47	0	0	1	52
24/7	12.400	38	1	0	1	60
26/7	10.800	22	2	0	0	76
29/7	7.750	24	1	0	0	75
2/8	7.750	34	0	0	0	66
5/8	10.850	20	0	0	13	67
Cob. 202	Leucocytes	Poly. neutro	P. Eosino	P. Baso	Gds Monos	Petits et Gds lymphos
6/7	6.820	28	1	0	1	70
11/7	6.200	62	2	0	1	35
13/7	5.580	15	0	0	3	82
16/7	3.100	29	0	0	1	70
18/7	3.875	16	0	0	0	84
20/7	5.425	10	0	0	0	90
22/7	5.425	32	0	0	0	68
24/7	18.600	70	1	0	0	29
26/7	16.275	42	1	0	0	57
29/7	13.175	24	2	0	6	68
2/8	6.200	34	2	0	0	64
5/8	7.750	26	0	0	6	68
Cob. 204	Leucocytes	Poly. neutro	P. Eosino	P. Baso	Gds Monos	Petits et Gds lymphos
6/7	5.580	64	5	0	1	30
11/7	10.850	51	2	0	2	45
13/7	6.200	20	2	0	1	77
16/7	3.875	34	0	0	1	65
18/7	4.650	47	0	0	1	52
20/7	6.200	33	1	0	2	64
22/7	8.525	22	0	0	1	77
24/7	6.975	35	0	0	0	65
26/7	6.975	34	0	0	0	66
29/7	10.075	46	2	0	0	52
2/8	6.975	30	2	0	0	68
5/8	6.200	7	4	0	5	84

Cob. P. 206	Leucocytes	Poly. neutro	P. Eosino	P. Baso	Gds Monos	Petits et Gds lymphos
6/7	4.340	56	5	0	0	39
11/7	14.725	42	2	0	0	56
13/7	9.300	10	1	0	1	79
16/7	3.875	21	1	0	0	78
18/7	4.650	12	0	0	0	88
20/7	8.525	8	0	0	2	90
22/7	6.975	12	0	0	2	77
24/7	13.175	15	1	0	0	84
26/7	13.175	38	0	0	0	62
29/7	11.625	10	0	0	0	84
2/8	7.750	28	2	0	0	70
5/8	8.525	51	8	0	3	38

Cob. P. 207	Leucocytes	Poly. neutro	P. Eosino	P. Baso	Gds Monos	Moy. et Pts lymphos
6/7	4.960	32	1	0	1	66
11/7	11.625	75	1	0	0	24
13/7	4.960	28	1	0	0	71
16/7	4.650	38	0	0	1	61
18/7	1.550	19	1	0	0	80
20/7	3.875	60	1	0	1	38
22/7	6.200	28	0	0	0	72
24/7	11.625	22	0	0	0	78
26/7	12.400	25	1	0	0	74
29/7	13.175	4	1	0	5	90
2/8	6.200	32	0	0	0	68
5/8	8.545	32	0	0	2	66

Cob. P. 209	Leucocytes	Poly. neutro	P. Eosino	P. Baso	Gds Monos	Petits et Gds lymphos
6/7	7.340	52	4	0	1	43
11/7	13.950	52	4	0	0	44
13/7	8.680	44	1	0	1	54
16/7	3.875	14	4	0	1	81
18/7	2.325	13	1	0	1	85
20/7	4.650	9	1	0	1	89
22/7	5.425	36	5	0	0	59
24/7	6.975	30	3	0	0	67
26/7	16.275	29	1	0	0	70
29/7	10.075	40	3	0	0	57
2/8	10.075	14	2	0	0	84
5/8	6.975	23	5	0	5	67

Urée sanguine. — Le taux de l'urée sanguine est en général très peu élevé. Nous avons trouvé seulement 0 gr. 126, malgré un amaigrissement notable, au 8^e jour, d'une fièvre ayant atteint ou dépassé 41° pendant 6 jours, et qui se terminera 5 jours plus tard par la mort. Les chiffres de 0 gr. 189, 0 gr. 063 ont été obtenus du 1^{er} au 2^e jour de l'apyrexie, ceux de 0 gr. 169 et 0 gr. 239 un peu plus tard.

C'est seulement dans les formes extrêmement graves que l'urémie est notable : 0 gr. 807 aux environs de la mort survenue 10 jours après une inoculation intracérébrale de virus.

A titre de comparaison, indiquons les taux trouvés chez 4 cobayes morts ou sacrifiés mourants de chorioméningite : 0 gr. 971, 1 gr. 386, 0 gr. 643, 0 gr. 404.

Evolution. — L'évolution de la maladie du cobaye aboutit le plus souvent à la guérison.

La mort survient chez moins de 10 % des cobayes qu'on ne sacrifie pas en vue des passages. Elle est due parfois à une rupture de la rate, peut-être facilitée par les manipulations au cours des prises de température, qui tue les animaux presque subitement en pleine fièvre par inondation sanguine du péritoine. L'accident s'explique par la rate énorme, boursouflée, déchirée et extrêmement friable que l'on trouve à l'autopsie. Il n'est pas exceptionnel (8 cas sur plusieurs centaines de cobayes), mais n'est responsable que d'une faible proportion des décès. En dehors de la rupture de la rate, la mort s'observe quelquefois en pleine hyperthermie, plus souvent

en hypothermie un ou deux jours, rarement davantage, après la fin d'une fièvre élevée et assez longue. L'étendue des lésions pulmonaires, constante dans ce cas, ne suffit pas toujours à expliquer la mort, qu'il faut rapporter à la gravité générale de la maladie.

Comme dans la fièvre des Montagnes Rocheuses, et dans la chorio-méningite lorsque les souches de ces virus ne sont pas toujours mortelles pour le cobaye, ce n'est pas à l'inoculation des plus fortes doses que succombe l'animal.

A la suite, par exemple, de l'inoculation d'une émulsion centrifugée de rate de cobaye à des dilutions diverses, les cobayes T 100 (3^e courbe de la figure 3) et T 97 meurent après avoir reçu 1 cc. des dilutions à 1/1.000.000 et à 1/1.000, alors que survivent ceux qui ont reçu les dilutions à 1/10, 1/100, 1/10.000 et 1/100.000.

Lésions anatomo-pathologiques (1). — La première constatation faite à l'autopsie d'un cobaye inoculé sous la peau et dont la fièvre a duré environ une semaine est un amaigrissement très marqué. La peau est collée sur les muscles, et la graisse peut avoir totalement disparu. L'amaigrissement met en relief les lésions locales d'œdème hémorragique, qui ne manquent à peu près jamais. La zone purement œdémateuse dépasse largement la zone où l'hémorragie se mêle à l'œdème. Il s'agit d'une infiltration d'aspect gélatineux, épaisse parfois de près d'un centimètre, et qui laisse échapper à la coupe un li-

(1) L'étude des lésions histo-pathologiques dues au virus D n'étant pas terminée, seul l'aspect macroscopique sera décrit ici, sauf nécessité absolue.

guide à peine teinté. Elle peut s'étendre, après inoculation au niveau de la cuisse, depuis le genou jusqu'à l'appendice xyphoïde, éventuellement à l'aisselle tout en débordant la ligne blanche médiane. Souvent plus limitée, elle mesure alors de cinq à six centimètres de hauteur, sur trois à quatre de largeur. Elle est d'autant plus hémorragique qu'on approche du point d'inoculation. A ce niveau, exception faite toujours d'une autopsie trop précoce, on tombe sur une cavité plus ou moins virtuelle, à parois ramollies et sanguinolentes, dont les frottis montrent l'état nécrotique du tissu conjonctif. Si l'injection a intéressé en partie les muscles, ceux-ci sont lardacés et l'aponévrose qui les recouvre mouchetée de sang.

Au milieu de l'infiltration œdémateuse, se retrouve un ganglion inguinal, parfois double, fortement augmenté de volume (petit haricot) et succulent à la coupe. A l'aîne opposée et dans les aisselles, pas d'hypertrophie lymphatique. Le ganglion lombaire du côté inoculé est augmenté de volume (pois chiche, petit grain de maïs) et parfois à un degré moindre le ganglion lombaire symétrique.

Des organes abdominaux, la rate est le plus manifestement atteinte. Elle est pour ainsi dire toujours hypertrophiée et d'autant plus que la maladie a évolué plus longtemps. La couleur en est normale ou plus foncée, la surface exceptionnellement recouverte d'une pellicule blanchâtre qui se détache facilement ; les bords sont d'autant plus arrondis et moins tranchants que l'augmentation de volume est plus notable. Le poids, qui pour un cobaye normal de 400 à 600 grammes s'écarte peu de

0 gr. 30, passe couramment à plus d'un ou deux grammes. En particulier chez des cobayes convalescents de typhus et inoculés avec le virus D, on a constaté des poids de 3 gr. 60, 4 gr. 50 et 5 gr. 80. Les grosses rates sont très friables et se déchirent à la moindre traction ou même spontanément (mort par rupture splénique). Gorgées de sang ou de cellules mobiles, elles se laissent broyer avec la plus grande facilité.

Le volume des capsules surrénales est irrégulier, tantôt normal, tantôt nettement augmenté ; un certain degré de congestion est souvent évident.

Macroscopiquement le foie et les reins ne semblent pas atteints.

Les poumons sont toujours touchés après quelques jours de fièvre. Une congestion diffuse ou limitée, leur donnant un aspect rougeâtre ou lilas, est la lésion la plus légère qu'on puisse observer. Plus fréquemment, il s'agit d'hépatisation rouge (1), de couleur et de consistance plus semblables à la pneumonie franche de l'homme qu'à la pneumonie hémorragique expérimentale de la souris morte de grippe ou de typhus. Très variable comme étendue, elle n'est à peu près jamais lobaire. Massive, elle englobe une ou plusieurs portions d'un ou plusieurs lobes, aussi bien au niveau de la gouttière costo-vertébrale qu'aux bords des poumons. Plus disséminée, elle forme une série de plages, superficielles ou profondes, à limites toujours tranchées et volontiers polygonales ou en bandes, ou encore un semis de points de petite di-

(1) Ce terme ne préjuge pas de la constitution histologique de la lésion.

mension. Surtout quand le cobaye est mort spontanément, les parties hépatisées peuvent correspondre à la moitié ou même plus du volume total des poumons.

Un épanchement pleural peu abondant, uni ou bilatéral, est plutôt exceptionnel.

Lorsque le cobaye est sacrifié non plus au cours de la fièvre, mais quatre à six semaines après l'inoculation, les lésions précédentes sont toutes en voie de régression marquée, mais encore pour la plupart nettement reconnaissables. L'œdème hémorragique a disparu ou a fait place à un tissu lardacé, alors que l'hypertrophie ganglionnaire persiste. La rate est presque toujours encore augmentée de volume, et les zones pulmonaires hépatisées parfaitement reconnaissables.

VOIE PÉRITONÉALE.

Utilisée dès le début pour l'isolement du virus et bien souvent par la suite, la voie péritonéale conduit à des résultats dans l'ensemble analogues à ceux que donne la voie sous-cutanée. L'incubation, la fièvre, l'évolution de la maladie sont les mêmes. Il est évident que les lésions caractéristiques d'inflammation sous-cutanée inguinale sont absentes. Elles sont remplacées, mais de façon inconstante, par un épanchement péritonéal peu abondant, presque incolore, visqueux, qui s'infiltre jusque dans les vaginales. Il est accompagné parfois d'un œdème sous-péritonéal manifeste.

La rate est assez fréquemment recouverte en totalité ou par places d'une pellicule blanchâtre plus ou moins épaisse et peu adhérente, qui peut s'étendre jusque sur

le foie. Il arrive, plus souvent qu'après inoculation sous-cutanée, que les poumons hépatisés baignent dans un épanchement pleural. Nous avons même constaté une fois un épanchement visqueux péricardique.

Les ganglions inguinaux sont intacts, les lombaires hypertrophiés symétriquement, les ganglions aortiques, rétro-hépatiques et médiastinaux fréquemment augmentés de volume.

Lorsque la maladie a évolué un temps suffisant avant l'autopsie de l'animal, on peut rencontrer une forme plastique, dans laquelle l'inflammation du péritoine, la rétraction de ses divers replis qui entourent les anses intestinales rapprochent ces dernières et les soudent entre elles, avec les autres organes et même avec la paroi abdominale.

VOIE CÉRÉBRALE.

Avec de grosses doses de virus, la maladie est caractérisée par une incubation raccourcie, par l'intensité des lésions spléniques et pulmonaires et par la fréquence d'épanchements péritonéaux ou pleuraux. Avec des doses faibles, les résultats sont sensiblement ceux auxquels aboutit l'inoculation sous-cutanée.

Le cobaye C 45 reçoit dans le cerveau 0 cc. 20 d'une émulsion centrifugée et titrée à 1/10 de rate du cobaye T 78. Moins de 24 heures après, sa température dépasse 40° et atteint bientôt 41°. Elle persiste 7 jours au-dessus de 40°, reste le lendemain entre 39°5 et 39°9 pour tomber le surlendemain à 37°5 une heure avant la mort de l'animal. Le poids est descendu de 465 à 345 grammes du 5^e au 10^e jour. Rate très grosse, foie pâle, lésions pulmonaires intenses.

Les cobayes M 33 et M 34 reçoivent chacun dans le cerveau 0 cc. 20 d'une dilution à 1/10 du cerveau du cobaye précédent. Inoculés en fin d'après-midi, ils ont dès le lendemain matin respectivement 40°8 et 40°4. Le premier meurt le 11^e jour sans que la fièvre ait cessé un instant. Rate et surrénales très grosses, épanchements citrins péritonéal et pleural bilatéral, lésions d'hépatisation pulmonaire intenses. Le sang contient au moment de la mort 0,807 d'urée.

La maladie du cobaye M 34 suit une marche analogue. On le sacrifie très malade, sinon mourant le 13^e jour. Lésions semblables à celles de M 33, y compris les épanchements péritonéal et pleuraux. Urée sanguine, le 13^e jour : 0,353.

Les cobayes V 27 et V 28 sont inoculés dans le cerveau avec 0 cc. 10 d'émulsion de la rate du cobaye V 13. Chez V 29 (émulsion à 1/100) la fièvre commence le 6^e jour, elle reste élevée jusqu'au 11^e jour où on sacrifie l'animal. Très grosse rate, congestion et hépatisation pulmonaire. Chez V 30 (émulsion à 1/1.000), fièvre du 7^e au 11^e jour. L'animal sacrifié le 16^e jour, montre des lésions semblables à celles du précédent.

Aucun des cobayes précédents, non plus que quelques autres inoculés de la même façon, n'a présenté de symptômes nerveux manifestes ; il n'y a eu en particulier ni paralysie, ni convulsion, ni salivation, ni mâchonnement.

VOIE RESPIRATOIRE.

Le virus D prend parfaitement chez le cobaye inoculé par instillation nasale sous-anesthésie légère à l'éther. Mais ce mode d'infection imprime une topographie particulière aux lésions pulmonaires.

Le cobaye C 48 ainsi traité reçoit 0 cc. 20 d'une émulsion à 1/10 de rate. Incubation de 30 heures. Fièvre du 2^e au

5^e jour compris et du 7^e au 12^e. Sacrifié dyspnéique le 12^e jour: grosse rate, congestion des surrénales, lésions pulmonaires en gros grains de semoule sur un fond qui apparaît normal, hémorragique ou hépatisé suivant les zones. Le cerveau du cobaye C 48 est virulent pour le cobaye M 31.

Le cobaye C 49 inoculé dans les mêmes conditions que C 48 ne fait de fièvre qu'à partir du 8^e jour et jusqu'au 14^e jour. Sacrifié au bout d'un mois : rate assez grosse, poumons congestionnés dans l'ensemble avec semis de petites taches de 2 à 4 mm. de diamètre, rondes ou polycycliques. Un fragment de ce poumon est virulent pour le cobaye L 11.

VOIE INTRA-DERMIQUE.

Elle a été utilisée de différentes façons.

A) — Le cobaye M 17 reçoit en injection intradermique, à la partie externe de la cuisse, épilée la veille, 0 cc. 1 d'une émulsion à 1/100 de la rate du cobaye D 56. Le 5^e jour, légère rougeur au point d'inoculation, qui augmente le lendemain pour former une papule de 7 à 8 mm. de diamètre. Les jours suivants, régression et disparition progressive. Fièvre moyenne du 6^e au 10^e jour compris, à peu près dans les mêmes conditions que le cobaye M 18 qui a reçu la même dose de virus sous la peau.

B) — Le cobaye V 13 reçoit dans l'épaisseur du coussinet plantaire droit, au moyen de 3 injections traçantes parallèles, 0 cc. 5 d'une émulsion à 1/10 de la rate du cobaye S 64. Œdème local léger du 3^e au 5^e jour, qui augmente les 2 jours suivants, puis montre un point central nécrotique. Fièvre irrégulière du 3^e au 4^e jour, plus intense (41°5) et continue jusqu'au 11^e jour, où l'on sacrifie l'animal. Ganglions inguinaux et lombaires droits un peu gros ; rate très grosse (2 gr. 90) ; lésions pulmonaires intenses. On ne constate pas d'œdème hémorragique au niveau du membre inoculé. Le

cobaye V 14 qui a reçu la même dose du même virus sous la peau de la cuisse droite, a fait une fièvre régulière dès le 3^e jour ; sacrifié en même temps que V 13, il présente une large infiltration inguinale, une grosse rate et des lésions pulmonaires.

Avec 0 cc. 1 émulsion à 1/100 de la rate de V 13, on inocule chacun des deux cobayes V 29 dans le coussinet plantaire (une seule injection) et V 30 sous la peau de la cuisse. V 29 ne montre rien d'anormal au point inoculé. Fièvre moyenne du 9^e au 10^e jour compris. Il est sacrifié le 12^e jour : infiltration du coussinet à peine visible à la coupe, ganglion inguinal du volume d'un petit haricot, rate très grosse, lésions de congestion pulmonaire. Le cobaye V 30 fait une fièvre élevée depuis le 4^e et surtout le 6^e jour, jusqu'au 12^e où on le sacrifie. Infiltration inguinale et autres lésions caractéristiques.

C) — Les deux cobayes P 211 et P 213 sont inoculés de la façon suivante : les coussinets plantaires postérieurs droits sont lavés à l'éther. Quand le liquide antiseptique a eu largement le temps de disparaître, on les recouvre avec une émulsion de rate du cobaye M 219 diluée à 1/100 (cob. P 211) et au 1/10 (cob. P 213). A travers le liquide virulent, on pique légèrement les téguments une cinquantaine de fois avec une fine aiguille à coudre stérile, sans faire saigner.

Aucune réaction locale les jours suivants. Le 8^e jour, la température des deux cobayes commence à monter en décrivant la courbe habituelle. Ils sont sacrifiés, P 213 le 15^e jour en pleine fièvre, P 211 le 18^e jour en fin de fièvre. Alors que le coussinet du premier présente une fine desquamation, celui du second est d'apparence entièrement normale. Pas d'œdème à la coupe. Ganglions inguinaux et lombaires normaux, ainsi que le tissu conjonctif qui les entoure, rates très grosses, poumons fortement congestionnés avec un semis de points d'hépatisation.

Les cobayes P 216 et 217 inoculés sous la peau avec 1 cc. de dilution à 1/100 de la même rate que les précédents avaient

commencé leur maladie après seulement 50 heures d'incubation.

L'inoculation intradermique paraît donc plutôt moins sensible que la sous-cutanée ; elle convient moins pour mettre en évidence l'action inflammatoire caractéristique du virus.

IMMUNITÉ CHEZ LE COBAYE QUI A SUBI UNE PREMIÈRE ATTEINTE.

Il est facile de constater que les cobayes qui ont fait la maladie expérimentale ne répondent pas à une nouvelle inoculation de matériel virulent, capable de déclencher chez des témoins la fièvre et les symptômes typiques. Chez ces cobayes qui ont subi une première atteinte, l'immunité est complète, c'est-à-dire qu'on ne constate ni fièvre, ni amaigrissement, ni réaction locale visible si l'injection seconde a eu lieu sous la peau. Peu importe que la dose virulente d'épreuve soit très supérieure à celle de la première inoculation, que la maladie ait été longue ou brève.

Le cobaye D 61 inoculé le 30 septembre 1939 sous la peau de la cuisse droite avec un centimètre cube d'une émulsion de rate préalablement centrifugée et diluée à un dix-millionième fait après douze jours d'incubation une fièvre de neuf jours de durée. Le 6 mai 1940, soit 219 jours plus tard, il reçoit sous la peau de la cuisse gauche un centimètre cube d'une émulsion à 1/100 de rate du cobaye V 152. Cette émulsion n'a pas été centrifugée, si bien que la dose d'épreuve est beaucoup plus de cent mille fois supérieure à la première dose virulente. Malgré cette disproportion, le cobaye D 61 ne réagit plus du tout.

Le cobaye T 91, après avoir reçu sous la peau 1 cc. d'une émulsion à 1/1.000.000 de cerveau du cobaye T 78, ne fait que deux fois 24 heures de fièvre les 12^e et 14^e jours, à la suite d'une mise bas. La température maxima n'a pas dépassé 40°3. Eprouvé un mois après l'inoculation première avec 1 cc. d'une émulsion de rate, à 1/100 non centrifugée du cobaye D 56, dose qui amène la mort d'un des témoins et représente plus de dix mille fois la quantité de virus injecté en premier lieu, le cobaye T 91 se montre complètement immun.

Il est difficile d'indiquer à quel moment précis apparaît l'immunité. On la constate lorsqu'on fait l'inoculation d'épreuve dès la fin de la fièvre. Quant à sa durée, le début de l'étude expérimentale du virus est trop peu éloigné pour en esquisser une limite.

Tous les cobayes expérimentalement infectés qui ont été éprouvés (environ trois cents) ont résisté à une épreuve effectuée de 1 mois à 9 mois $\frac{1}{2}$ après l'inoculation première. Mentionnons en particulier les cobayes T 64, L 11, D 61 et D 75, réinoculés respectivement au bout de 190, 210, 219 et 282 jours.

L'étude des cobayes de passage nous a montré qu'aux doses utilisées et qui ont été abaissées parfois jusqu'à 1 cc. d'une dilution à 1/10.000.000, les animaux neufs répondaient par une fièvre nette et devenaient immuns.

Une seule exception a été rencontrée : le cobaye T 89 inoculé sous la peau avec 1 cc. d'une émulsion à 1/10.000 de cerveau ne fait ni fièvre ni réaction locale et ne maigrit pas. Cependant les cobayes inoculés en même temps avec les émulsions à 1/100.000 et 1/1.000.000 préparées à partir de celle qui n'a pas agi sur T 89, font des maladies nettes avec immunité consécutive. Le cobaye T 89 n'était pas immun, car éprouvé au

bout d'un mois avec un centimètre cube de rate à 1/100, il fait la maladie.

Nous n'avons donc constaté, chez les cobayes de nos élevages ayant servi aux passages, ni maladie inapparente, ni immunité antérieure spontanée ou naturellement acquise. Mais nous savons que, lorsqu'on substitue au matériel virulent utilisé pour entretenir la souche, des organes prélevés en dehors des périodes fébriles ou chez des animaux peu réceptifs, certaines humeurs ou encore des produits filtrés ou soumis à des antiseptiques, on peut provoquer des maladies atténuées ou inapparentes. L'une d'elles, celle du cobaye M 28 de la figure 3 est établie sans discussion possible par la constatation du virus dans le sang après l'incubation, puis d'une immunité consécutive.

La notion de la sensibilité au virus D de tous les cobayes neufs, au moins pour des doses dépassant 1 cc. d'une émulsion à 1/10.000 de rate fraîche, nous permet d'être moins exigeant pour admettre une maladie inapparente. Il nous suffira de prouver l'immunité à une émulsion à 1/100 des animaux qui ont reçu antérieurement sans réagir un produit supposé virulent.

Il n'y a évidemment pas de distinction essentielle à établir entre le matériel infectieux des passages et celui où l'on recherche en quelque sorte un résidu de virulence. L'obligation d'économiser les animaux nous a empêché de pousser assez loin nos dilutions ; sans quoi nous aurions très probablement rencontré, en inoculant des quantités suffisamment faibles d'organes très actifs, les mêmes formes atténuées ou inapparentes auxquelles

donnent naissance des quantités assez fortes de produits peu virulents.

LA MALADIE EXPÉRIMENTALE DU SINGE

La pénurie d'animaux ne nous a pas permis d'étudier aussi largement que nous l'aurions désiré l'action pathogène du virus D sur le singe. Les deux inoculations suivantes, les seules qui aient pu être pratiquées, montrent cependant la sensibilité des singes inférieurs et notamment du *M. Rhesus*. Cette sensibilité est encore confirmée du fait qu'une souche d'un virus présentant les mêmes caractères que la souche D, et se confondant immunologiquement avec elle, a été isolée du sang d'un singe fébrile.

Singe 117. — Le jeune Rhesus mâle 117 est inoculé le matin dans le cerveau par trépanation au forêt du temporal ; on injecte 1 cc. d'une émulsion de rate à 1/10, du cobaye T 78 préalablement centrifugée.

Les températures suivantes sont relevées :

	M.	S.
Le 2 ^e jour :	38°8	39°5
— 3 ^e —	40°3	40°3
— 4 ^e —	39°5	40°
— 5 ^e —	39°7	40°
— 6 ^e —	39°5	40°5
— 7 ^e —	39°1	

Le quatrième jour, on constate une paresse évidente des mouvements et une conjonctivite de l'œil gauche, symptômes qui persistent sans grande modification les jours suivants. Au matin du 7^e jour, l'animal est pris de crises convulsives spontanées ou provoquées par une faible excitation, intéres-

sant les quatre membres et à la fin desquelles il reste étendu sur le sol, incapable du moindre mouvement. Les crises se succèdent toutes les quatre ou cinq minutes en l'absence de toute excitation de l'animal. Dans l'intervalle, le singe se remet peu à peu et se soulève sur ses membres, mais la marche ou même la station restent impossibles. Il n'y a pas de paralysie vraie, mais seulement une faiblesse très grande de tous les muscles. L'animal endormi, on pratique une ponction sous-occipitale, puis on pousse l'anesthésie jusqu'à la mort. Le L.C.R. obtenu est très louche : 420 éléments par mm³, dont 85 % de lymphocytes et 15 % de polynucléaires. L'autopsie montre un cerveau très congestionné et une rate grosse, sans autres lésions macroscopiques. Le cerveau, le sang, la rate, les surrénales, la bile sont virulents (voir plus loin).

Singe 118. — Ce tout jeune Rhesus mâle reçoit sous la peau une émulsion contenant 0 gr. 10 de cerveau et 0,10 de rate du singe 117. La fièvre se manifeste dès le lendemain soir et on note les températures suivantes :

	M.	S.
Le 2 ^e jour :	38°7	39°7
— 3 ^e —	39°7	39°7
— 4 ^e —	40°8	40°5
— 5 ^e —	40°7	40°
— 6 ^e —	40°7	40°7
— 7 ^e —	40°3	40°6
— 8 ^e —	39°7	38°7
— 9 ^e —	38°8	39°5
— 10 ^e —	38°7	

Depuis le dixième jour, la température reste normale. Pendant la période fébrile, l'animal se tient à peu près immobile dans un coin de sa cage, mais sans paralysie, ni convulsions, ni aucun autre symptôme nerveux. Son poids, de 1.445 gr. au début, est de 1.500 grammes le premier jour de l'apyrexie ; il diminue légèrement (1.385 et 1.375 grammes les 5^e et 9^e jours après la fin de la fièvre), pour revenir ensuite à la normale.

Ces deux expériences, qui devraient être répétées, attestent une sensibilité assez grande des simiens inférieurs au virus D, surtout par la voie cérébrale, qui donne lieu à une méningite à lymphocytes caractéristique.

LA MALADIE EXPERIMENTALE DU CHIEN

Une première expérience d'orientation est assez peu instructive.

On utilise une émulsion à 1 % de la rate du cobaye D 56 que l'on vient de sacrifier.

Chien 1. — Reçoit 1 cc. par voie sous-occipitale. Fièvre irrégulière dès le début. Mort dans la nuit au bout d'une semaine. Cadavre légèrement décomposé. Le liquide céphalo-rachidien, vraie purée de lymphocytes, ne montre pas de microbe à l'examen direct, mais donne en culture un bacille coliforme.

Chien 2 (0 cc. 5 de la même émulsion en injection intradermique). — Fait une poussée fébrile vers les 8^e-12^e jours. Mort le 18^e, très amaigri et couvert de tiques. Les cultures de cerveau restent stériles, mais l'inoculation au cobaye M 50 ne provoque pas de fièvre, ni d'immunité.

Chien 3 (5 cc. du même matériel sous la peau de la patte). — Présente aussi quelques poussées fébriles. Le 14^e jour (température à 41°), on prélève 4 cc. de sang répartis en injection péritonéale entre 2 cobayes M 24 et M 64. Le premier ne fait ni fièvre, ni immunité ; le second meurt d'infection intercurrente.

Le seul enseignement à tirer de cet essai, et avec toutes ses réserves nécessaires quand la récolte du L.C.R.

est faite ainsi tardivement après la mort, est que les méninges du chien sont probablement sensibles au virus. C'est ce qu'ont vérifié les expériences suivantes, dont nous groupons les résultats d'après les voies utilisées.

VOIE SOUS-OCCIPITALE. — *Chien 4.* — Reçoit 1 cc. d'émulsion, à 1 % de rate fraîche du cobaye M 100 légèrement centrifugée. La température, qui oscillait entre 37°8 et 38°6, monte un peu au-dessus de 39° les 4^e et 5^e jours ; une conjonctivite bilatérale se montre le 6^e jour ; elle persistera pendant environ un mois, avec une mydriase intense au début.

Ponctions sous-occipitales le 7^e jour (200 éléments, dont 80 % de lymphocytes), le 19^e jour (110 éléments, dont 90 % de lymphos), le 26^e jour (60 éléments), les 37^e et 50^e jours (17 et 18 éléments). A partir de la 3^e ponction, il n'y a plus que des lymphocytes.

La présence du virus est recherchée dans le L.C.R. et le sang par inoculation au cobaye (1), dont on prend la température pendant un mois, et dont on éprouve ensuite l'immunité, si cela est nécessaire. Les cobayes inoculés le 7^e jour (S 87, 1 1/2 cc. de sang; S 88, 1 1/4 cc. de L.C.R.) font une fièvre intense et montrent des lésions typiques.

Des cobayes inoculés le 18^e jour, V 5 (1 1/2 cc. de L.C.R.) fait une fièvre caractéristique au bout de 11 jours et met bas ce jour, tandis que V 6 présente des poussées thermométriques sans signification nette. Les deux cobayes font preuve ultérieurement d'une immunité complète.

Le 25^e jour, on injecte 2 cc. de L.C.R. au cobaye V 20 (ni fièvre, ni immunité et 3 1/2 cc. de sang au cobaye V 21 (mort par péritonite à bacille de la pseudo-tuberculose des rongeurs).

(1) La stérilité du sang et du L.C.R. a naturellement toujours été vérifiée.

Chien 95. — Inoculé dans les mêmes conditions avec une émulsion à 1/100 de rate du cobaye V 14. Fièvre légère les 6^e et 7^e jours. Ponctions sous-occipitales le 7^e jour (560 éléments, 85 % de lymphos, 0 gr. 50 d'albumine), le 21^e jour (43 éléments, 98 % de lymphos, 0 gr. 20 d'albumine). Le L.C.R. du 7^e jour, inoculé dans le péritoine du cobaye V 39, lui donne de la fièvre ; le cobaye sacrifié trop tôt ne montre pas de lésions typiques, mais on les trouve dans le cobaye C 21 inoculé avec la rate du cobaye V 39.

Chien 20. — Comme le chien 95, mais l'émulsion est à 1/10 au lieu de 1/100. Fièvre légère du 2^e au 6^e jour. Ponctions sous-occipitales le 9^e jour (350 éléments, 90 % de lymphos, 6 poly, 4 cell. endoth.) et le 21^e jour (58 % de lymphos). Le 9^e jour, 2 cc. de sang injectés au cobaye L 27 ne donnent ni fièvre ni immunité, mais 1 cc. de L.C.R. provoque chez le cobaye V 46 une mise bas prématurée, de la fièvre et une immunité consécutive totale.

VOIE CÉRÉBRALE. — *Chien 90.* — 1 cc. d'émulsion à 1 % dans l'hémisphère droit par perforation au forêt du temporal. La température dépasse 40° le lendemain. Elle retombe, pour remonter de 39 à 40° du 6^e au 10^e jour. Kérato-conjonctivite le 7^e jour, persistant une semaine environ. Ponctions sous-occipitales le 7^e jour (640 éléments, en grande majorité lymphocytes ; 0 gr. 50 d'albumine) et le 21^e jour (220 éléments, 90 % lymphos ; 0 gr. 40 d'albumine).

Chien 68. — Même injection, mais avec émulsion à 1/10. Pas de fièvre nette. Conjonctivite droite, puis bilatérale du 7^e jour au 21^e environ. Mise bas prématurée le 20^e jour de 2 chiots morts.

Ponction sous-occipitale le 9^e jour (220 éléments, dont 95 % de lymphos, 3 % poly, 2 % cell. endoth.).

Ni le sang, ni le L.C.R. prélevés ce jour ne provoquent chez les cobayes L 62 et V 45 une réaction fébrile ou l'immunité.

VOIE OCULAIRE (CHAMBRE ANTÉRIEURE). — *Chien 82.* — Injection de 0 cc. 25 d'émulsion de rate à 1/100 du cobaye V 14. Dès le lendemain, opacification de la cornée et trouble intense de la chambre antérieure ; injection de la conjonctive et larmoie-ment. L'inflammation diminue au bout d'environ une semaine, mais après un mois, la transparence de la cornée n'est pas entièrement revenue. Fièvre légère pendant une douzaine de jours, débutant 24 heures après l'injection. Ponctions sous-occipitales le 9^e jour (22 éléments, dont 90 % de lymphos) et le 21^e jour (15 % de lymphos). Le L.C.R. du 9^e jour ne donne au cobaye V 48 (1 $\frac{1}{2}$ cc.) ni fièvre, ni immunité. Le sang du même jour ne provoque pas de réaction fébrile chez le cobaye V 44 (2 cc.), mais cet animal est très probablement immunisé ; il est, en effet, resté sans fièvre pendant 17 jours après l'injection d'épreuve, alors que les cobayes témoins et les 12 qui ont réagi sur 17 éprouvés ont tous fait de la fièvre avant la fin du 7^e jour. La température ne s'est élevée chez V 44 que le 18^e jour, après un avortement, auquel il a succombé. Aucune lésion caractéristique du virus étudié. Des inoculations n'ont pas été possibles, le cadavre étant altéré.

Chien 58. — Même injection avec une émulsion à 1/10. Mêmes lésions oculaires ; élévation thermique du même ordre.

Ponctions : 7^e jour (98 éléments, dont 90 % de lymphos) et 21^e jour (30 % de lymphos).

Le 7^e jour, 1 $\frac{1}{4}$ cc. de L.C.R. est inoculé dans le péritoine du cobaye R 55 qui commence au bout de 19 jours une fièvre intense et prolongée. Sacrifié le 27^e jour, il montre une rate et des poumons caractéristiques.

VOIE VEINEUSE. — *Chien 6.* — Reçoit 5 cc. d'une émulsion à 1/100 de la rate de cobaye M 100. Fièvre dépassant légèrement 39° du 4^e au 6^e jour et reprenant du 19^e au 24^e jour (40°2 le 22^e jour) avec un état de malaise manifeste : animal triste, immobile, sans appétit. Conjonctivite avec mydriase dès le

17^e jour. La conjonctivite persiste 3 semaines, d'abord gauche, puis bilatérale. Ponctions sous-occipitales le 21^e jour, au moment de la poussée fébrile (62 éléments, dont 90 % de lymphos) ; le 25^e jour (16 % de lymphos) ; les 36^e et 50^e jours (28 et 16 % de lymphos). Les cobayes inoculés le 21^e jour, V 9 avec $\frac{1}{2}$ cc. de L.C.R. et V 10 avec 4 cc. de sang, ne réagissent pas par de la fièvre, mais acquièrent une immunité presque complète : à la suite de l'inoculation d'épreuve, ils ne font qu'une très légère réaction locale, sans aucune élévation thermique.

Chien 98. — Reçoit 2 cc. d'émulsion à 1/100 de la rate du cobaye V 14. La température dépasse à peine 39° le 5^e jour. Le L.C.R. ne contient que 7 lymphos par mm³ le 21^e jour.

Chien 88. — Reçoit 2 cc. de l'émulsion à 1/100 de la même rate. Pas de fièvre nette.

Le 9^e jour, le L.C.R. présente 35 éléments et le 21^e jour 4 seulement, avec 0 gr. 20 d'albumine.

L'inoculation du L.C.R. du 9^e jour au cobaye V 47 ($1\frac{1}{2}$ cc.), ne lui donne pas de fièvre mais le rend immun, tandis que le sang prélevé en même temps reste totalement inactif vis-à-vis du cobaye L 44 ($1\frac{1}{2}$ cc.).

VOIE SOUS-CUTANÉE. — *Chien 5.* — 5 cc. d'émulsion à 1/100 de rate du cobaye M 100 sous la peau de la patte.

Très légère poussée fébrile les 3^e et 4^e jours.

Le L.C.R. a 10 lymphocytes au mm³ le 18^e jour, 12 le 25^e, 42 le 30^e, 28 et 10 les 36^e et 50^e jours. Le sang prélevé le 18^e jour, les L.C.R. des 18^e et 30^e jours ne provoquent ni fièvre nette, ni immunité chez les cobayes auxquels on les injecte.

VOIE INDRADERMIQUE. — *Chien 7.* — 0 cc. 4 et 0 cc. 3 d'émulsion à 1/100 de la rate du cobaye M 100 en 2 injections intradermiques.

Légère réaction locale avec rougeur au bout de 48 heures, puis formation d'une croutelle. Pas de fièvre nette. Le L.C.R. présente 10 lymphos le 21^e jour, 8 le 25^e, 16 le 36^e et 8 le 50^e.

C'est donc à l'introduction du virus par les voies qui touchent le système nerveux et par la voie veineuse que le chien se montre le plus sensible.

Il répond par une élévation thermique, le plus souvent modérée et transitoire, mais surtout par une réaction méningée souvent intense, du type lymphocytaire, et avec une faible augmentation de l'albumine.

S'il est assez naturel que cette réaction soit la conséquence d'une inoculation cérébrale, sous-occipitale, voire oculaire, sa fréquence, après l'injection intra-veineuse montre bien l'affinité du virus pour les méninges du chien.

La conjonctivite amicrobienne, témoin si fréquent des inflammations encéphalo-méningées (rage, typhus, maladie d'Armstrong, maladie des porchers, etc...) est le seul symptôme clinique, et encore est-il inconstant, qui puisse appeler l'attention sur ce qui se passe à l'intérieur du crâne.

Introduit par ces diverses voies, le virus a été décelé du 7^e au 21^e jour dans le sang et dans le liquide céphalo-rachidien.

La preuve de sa présence n'est pas toujours facile à administrer ; elle est plus souvent indirecte et basée sur la constatation d'une immunité à l'inoculation d'épreuve, que directe et appuyée sur l'obtention de belles réactions fébriles et de lésions caractéristiques chez les cobayes réactifs. Cela n'étonnera pas quand on songe combien il est aléatoire et souvent difficile d'isoler du sang ou du liquide céphalo-rachidien humain les virus de la maladie d'Armstrong ou de la maladie de Bouchet (maladie des porchers).

ESSAIS DE RÉINFECTION DU CHIEN. — *Le chien 3* inoculé sous la peau le 11 octobre avec 5 cc. d'émulsion de rate de cobaye à 1/100 reçoit 49 jours plus tard par la même voie 15 cc. d'une émulsion fraîche analogue.

Il meurt en 7 jours sans fièvre, avec paralysie du train antérieur dans les dernières 24 heures. Cadavre altéré. Le cerveau fortement congestionné donne du colibacille en culture et ne peut être inoculé.

Les chiens 4, 5, 6, 7 sont tous réinoculés au bout de 48 jours par une injection sous-occipitale de 1 cc. d'émulsion à 1/100 de rate fraîche de cobaye.

Les deux animaux qui n'avaient présenté ni fièvre ni lymphocytose méningée nettes après l'inoculation première se comportent d'une façon non inattendue et réagissent cette fois. Le chien 5 (inoculation première sous-cutanée) dépasse 39° du 6^e au 11^e jour et monte jusqu'à 40°5. Son L.C.R. a, le 9^e jour, 106 éléments, dont 95 % de lymphos et 0 gr. 35 d'albumine. Il n'a plus que 15 lymphos le 32^e jour.

Le chien 7 (inoculation première intradermique) fait une fièvre plus légère et plus brève ; le L.C.R. a 98 éléments le 9^e jour, dont 95 % de lymphos et 0 gr. 25 d'albumine. Il a encore 40 lymphos le 32^e jour.

Mais la réponse à l'inoculation seconde est bien plus violente chez les animaux qui avaient réagi la première fois.

Le chien 4 (injection première sous-occipitale) a de 39 à 39°5 les 2^e et 3^e jours, une conjonctivite le 8^e. Son L.C.R. présente 160 éléments, dont 92 % de lymphos le 9^e jour, et seulement 16 le 32^e jour. 2 cc. de L.C.R. du 9^e jour ne donnent au cobaye S 53 ni fièvre, ni immunité.

Le chien 6 (injection première intraveineuse), légèrement fébrile les 2^e et 3^e jours, est sur le flanc le 7^e jour. On le sacrifie le 8^e jour en hypothermie (34°) après avoir prélevé du L.C.R. qui contient 980 éléments, dont 95 % de lymphos. A l'autopsie, les organes semblent normaux, à l'exception du cerveau qui est fortement congestionné. Les cultures du cerveau, du sang, de la rate, de la bile restent stériles.

2 cc. du L.C.R. ont été inoculés au cobaye V 68 sans donner de fièvre ni d'immunité. Il en est de même de la bile (1 cc.) et de la rate (0 gr. 10) inoculées aux cobayes C 16 et C 18. L'inoculation au cobaye C 17 de 0 gr. 15 de cerveau est suivie de fièvre irrégulière, mais non d'immunité.

Il est difficile pour le moment d'expliquer ce qui s'est passé chez les chiens 3, 4 et 6. La mort des chiens 3 et 6, au bout d'une semaine, après des symptômes nerveux évidents, semble bien sous la dépendance de la réinoculation. Y a-t-il hypersensibilisation au virus, aux protéines de la rate de cobaye, ou aux deux ? La présence de virus n'a pu être prouvée chez les animaux réinoculés.

De nouvelles expériences seraient nécessaires, que les circonstances ne nous ont pas permis d'entreprendre.

MALADIE EXPERIMENTALE DE LA SOURIS

Cet animal qui répond de façon si particulière et si caractéristique à l'inoculation intracérébrale du virus de la chorio-méningite lymphocytaire, est un témoin presque muet de l'infection par notre virus.

Nous serions obligé d'écrire qu'il ne fait jamais qu'une maladie inapparente, si, suivant une habitude déjà ancienne, dans le laboratoire de P. Durand on ne prenait régulièrement la température des souris en expérience. Quelle qu'ait été la voie d'inoculation et la virulence du matériel utilisé, jamais nous n'avons noté le moindre symptôme nerveux ou autre, en dehors d'une élévation thermique plus ou moins prolongée, mais presque constante. Jamais la mort n'est survenue du fait de l'inoculation. Les souris sacrifiées à

des dates diverses présentent à peu près toujours une rate beaucoup plus grosse que celle des souris de même provenance soumises à d'autres inoculations, en particulier infectées de typhus par voie respiratoire ; les poumons sont assez souvent le siège de lésions de condensation ; les organes, rate, poumons, cerveau, restent virulents au moins un certain temps après l'inoculation.

Voici les résumés de quelques-unes des expériences qui ont porté sur des souris :

VOIE SOUS-CUTANÉE. — La souris 670 R est inoculée sous la peau de la patte postérieure droite avec 0 cc. 5 d'une émulsion à 50 % de rate de cobaye. Fièvre à partir du 6^e jour. Sacrifiée le lendemain. Rate grosse. Le poumon droit contient deux zones densifiées, presque hépatisées, dont le volume total correspond à environ 1/3 du poumon droit. Les 9/10 de la rate, inoculés au cobaye, lui donnent la maladie typique ; 1/100 de la rate, 9/10 du cerveau, 1/5 du poumon droit (bien qu'il s'agisse de la partie densifiée) n'infectent pas trois autres cobayes.

La souris 669 sm. est inoculée sous la peau de la patte postérieure droite avec $\frac{1}{2}$ cc. d'une émulsion à 50 % de rate de cobaye. Fièvre irrégulière à partir du 6^e jour. Pas de réaction locale. Pas d'autre symptôme. Sacrifiée le 13^e jour. Pas de réaction locale. Grosse rate. Légère hypertrophie des ganglions lombaires. Poumons normaux. Des cobayes inoculés sous la peau chacun avec 1/3 de cc. de sang, la moitié du cerveau, environ 1/10 du foie, 1/100 de la rate, la moitié d'un rein, font tous une maladie typique après des incubations assez brèves.

La souris 669 r. est inoculée dans les mêmes conditions que 669 sm. et réagit de la même façon. Sacrifiée le 30^e jour ; pas de lésions apparentes, rate petite. La rate, les reins, le foie sont virulents pour le cobaye. Le cerveau ne l'est pas.

VOIE PÉRITONÉALE. — La souris 670 b. reçoit dans le péritoine 0 cc. 5 d'une émulsion à 50 % de rate de cobaye. Fièvre à partir du 6^e jour. Sacrifiée le 10^e jour. Rate énorme (plus de 15 fois le volume normal) ; congestion intense des poumons. Des cobayes sont inoculés avec 1/10 de cc. de sang, 1/3 de cerveau, 1/2 rein, 1/6 de poumon, 1/1.000 de la rate : à l'exception de l'animal inoculé de sang, qui fait une maladie légère, mais nette, tous les autres sont infectés de façon intense après des incubations plutôt courtes.

La souris 6 sm. est inoculée avec 0 cc. 5 d'une émulsion à 1/10. Fièvre à partir du 5^e jour. Sacrifiée le 11^e jour : grosse rate. Le tiers du cerveau, le dixième de la rate, donnent au cobaye une fièvre nette, quoique peu intense, suivie d'immunité.

La souris 669 b. est traitée comme 670 b. Fièvre à partir du 7^e jour. Sacrifiée le 13^e jour. Grosse rate ; ganglions lombaires un peu gros ; rien de visible aux poumons. 1/10 de la rate, la moitié d'un rein donnent une maladie typique au cobaye par inoculation sous-cutanée, tandis que la moitié du cerveau ne donne pas de fièvre.

La souris 670 j. est inoculée comme 669 b. et 670 b. Fièvre du 6^e au 9^e jour, puis courtes poussées fébriles irrégulières. Sacrifiée le 30^e jour : rate énorme (plus de 15 fois le volume normal), congestion pulmonaire intense. La rate, les poumons, le foie sont fortement virulents pour le cobaye ; les reins, le cerveau le sont plus faiblement.

VOIE RESPIRATOIRE. — Les souris 7 sm., 690 sm. et 690 rb. sont inoculées par instillation nasale sous anesthésie à l'éther avec 0 cc. 1 d'émulsion de rate de cobaye à 1/10 (7 sm.) et à 1/2 (690 sm. et rb.). Fièvre légère ou nulle. Sacrifiées le 11^e jour : grosses rates, lésions pulmonaires nettes sous forme de zones densifiées, sans hépatisation franche. Un fragment des poumons de la première souris est virulent pour le cobaye

en inoculation sous-cutanée, tandis qu'un fragment du cerveau ne l'est pas (ni fièvre, ni lésions, passage négatif à un second cobaye). Le cerveau et les poumons des souris 690 sont fortement virulents.

La souris 690 rj. est inoculée comme 690 sm. et 690 rb. Sacrifiée le 42^e jour : rate un peu grosse, poumons très congestionnés. Rates virulentes.

VOIE CÉRÉBRALE. — Les souris 26 r. et 26 rb. reçoivent dans le cerveau 0 cc. 03 d'une émulsion de rate de cobaye à 1/100. La première fait une fièvre très légère, la seconde une fièvre plus nette du 8^e au 13^e jour, avec poussées plus courtes dans la suite. Pas de symptômes nerveux. Sacrifiées le 21^e jour, elle montrent de grosses rates et des lésions pulmonaires d'hépatisation plus ou moins prononcée au niveau des gouttières costo-vertébrales. L'inoculation sous la peau du cobaye démontre la virulence des cerveaux et surtout des rates.

La souris 28 b. est inoculée dans les mêmes conditions avec une émulsion du cerveau du Rhesus 117. Elle ne fait pas de fièvre nette. Sacrifiée le 22^e jour, elle présente une hypertrophie notable de la rate. Celle-ci est virulente pour le cobaye en injection sous-cutanée. Le cerveau, inoculé de même ($\frac{1}{2}$ cerveau), ne donne ni maladie nette, ni immunité.

Les souris 689 sm., 689 r., 689 j. et 689 rb. sont inoculées avec 0 cc. 03 d'une émulsion à 1/10 de la rate du cobaye M 219. Toutes font de la fièvre dès le lendemain ; l'élévation thermique, plus ou moins continue, dure un peu plus d'une semaine chez la première et la troisième, deux semaines chez la deuxième et trois chez la dernière. Toutes sont sacrifiées le 42^e jour. Le volume des rates correspond respectivement à 3, 12, 8 et 20 fois le volume normal, comme s'il y avait un rapport entre la réaction fébrile et l'hypertrophie splénique. La congestion des poumons est peu apparente chez la troisième, plus nette chez la première, très intense chez les deux autres. Cerveaux, rates et reins sont virulents.

MALADIE EXPÉRIMENTALE DU RAT

Le rat blanc s'infecte avec le virus D ; il fait de la fièvre, guérit et conserve un certain temps le virus dans ses organes.

Les rats 9 R et 9 B reçoivent *dans le péritoine* chacun 1 cc. d'émulsion à 1/10 de rate du cobaye T 78. Au bout de 36 et de 48 heures, leur température s'élève ; elle dépasse bientôt 39°5 et ne revient à la normale qu'au bout de 3 à 4 jours. Aucun autre symptôme.

Les rats 10 M et 10 F éthérisés reçoivent *en instillation nasale* la même émulsion virulente (0 cc. 2). La fièvre débute plus tard (5^e à 7^e jour) et procède par courtes poussées. Pas d'autres symptômes. Le rat 10 M est sacrifié le 12^e jour. Grosse rate. Lésions d'hépatisation pulmonaire gris rosé occupant la moitié du volume des poumons. Ceux-ci sont très virulents pour le cobaye, le cerveau l'est peu (maladie inapparente du cobaye, suivie d'immunité). Le rat 10 F est sacrifié le 34^e jour en état apparent de parfaite santé. La rate est normale, le poumon droit montre deux points de condensation : un fragment de ce poumon injecté au cobaye M 23 lui donne une fièvre élevée du 8^e au 13^e jour, avec immunité consécutive.

Les deux rats 11 F et 11 M sont inoculés *dans le cerveau* chacun avec 0 cc. 15 de l'émulsion à 1/10 de la rate du cobaye T 78. Fièvre au bout de 24 et de 36 heures, durant 5 à 6 jours, atteignant ou presque 40°, suivie de courtes poussées occasionnelles autour de 38°5. Pas de symptômes nerveux.

Le rat 11 M fait de l'hypothermie à partir du 24^e jour, il est sacrifié le 26^e à 32^e, sans lésion apparente. Son cerveau, stérile, est très virulent pour le cobaye, même à la dilution de 1 pour 1.000.

Le rat 11 F survit.

MALADIE EXPERIMENTALE DU MÉRION

Ce rongeur sauvage de l'Afrique du Nord (*Meriones Shawi*) est précieux pour l'étude de certains virus tel que celui de la fièvre boutonneuse. Il est sensible au virus D à la façon du rat blanc.

Inoculé par voie cutanée, il devient fébrile après 2 à 4 jours et le reste 2 ou 3 jours (de 39 à 40°). La réaction locale est sensiblement nulle même avec de fortes doses de virus. Pas d'autres symptômes. L'animal survit. S'il est sacrifié, on lui trouve une rate un peu grosse et une congestion pulmonaire plus ou moins intense. Le cerveau, le sang et la rate sont virulents le 7^e jour (mérion 149), le cerveau et surtout les poumons le 10^e jour (mérion 686 f).

L'injection du virus dans le derme à la base de la queue donne des résultats très voisins sans lésion locale. Virulence du sang le 7^e jour.

Introduit dans le péritoine, le virus paraît un peu plus actif. L'incubation descend à 36 heures, la fièvre atteint ou dépasse 40° et même 40°5. Le sang a été trouvé très virulent le 7^e jour. L'animal guérit. Une autopsie le 11^e jour a montré une rate grosse et de la congestion des poumons ; l'inoculation de ces deux organes au cobaye a provoqué une maladie typique.

Infecté par voie respiratoire après éthérisation, le mérion fait une fièvre inconstante, ne dépassant guère 39°. Pas de symptômes apparents. L'animal laissé à lui-même survit. Sacrifié du 11^e au 14^e jour, il montre une rate un peu grosse, des poumons congestionnés, présen-

tant des zones d'hépatisation plus ou moins larges, parfois même sans lésion apparente à l'œil nu. La rate, les poumons, le cerveau sont très virulents le 11^e jour (mérion 149 ter), de même que le cerveau et le poumon (sans lésions apparentes) du mérion 688 f. sacrifié le 13^e jour.

La voie cérébrale, quoique assez active, ne donne aucun symptôme d'ordre nerveux. L'incubation varie de 2 jours (émulsion à 1/10) à 7 jours (émulsion à 1/100). La fièvre dure de 2 à 5 jours et atteint 40°. Elle est suivie de guérison complète. Si l'on sacrifie l'animal au 15^e jour donc parfaitement apyrétique, on ne trouve même pas d'hypertrophie splénique. Mais le cerveau est encore virulent.

MALADIE EXPÉRIMENTALE DU LAPIN

Le lapin réagit peu au virus D, et de façon irrégulière. Il donne par contre facilement, surtout après inoculations multiples, un sérum riche en anticorps. —

Le lapin C 94 reçoit *sous la peau de l'oreille* 0 cc. 5 d'une émulsion à 1/10 de rate du cob. V 14. Légère inflammation locale les jours suivants. Pas de fièvre. Le 7^e jour, on prélève par ponction cardiaque 5 cc. de sang qui sont inoculés *dans le derme* (flanc droit) avec 0 cc. 2 de la même émulsion que C 94. Il se forme dès le lendemain une papule à centre jaune. de 7 à 8 mm. de diamètre, qui persiste aux mêmes dimensions pendant 3 jours, puis disparaît au bout d'un temps égal. Fièvre (40°6) seulement le lendemain de l'inoculation.

Les lapins C 46 et C 47 reçoivent chacun *dans le péritoine* la moitié du culot de centrifugation de la rate du cob. T 78. Après 48 heures d'incubation, fièvre élevée (40°8 et 41°4) du-

rant 3 à 4 jours $\frac{1}{2}$. Aucun symptôme. Dix jours après, on leur injecte par la même voie à chacun la moitié du foie et de la rate broyés du cobaye M 13, sans provoquer la moindre élévation thermique.

Le lapins C 42 et C 43 reçoivent chacun *dans le cerveau* 0 cc. 20 d'émulsion à 1/10 centrifugée de la rate du cobaye T 78. Fièvre élevée dès le lendemain ou le surlendemain persistant 4 à 6 jours. Légère conjonctivite bilatérale du 4^e au 7^e jour chez les deux animaux. Aucun autre symptôme nerveux. Guérison complète.

Le lapin C 81 est inoculé également *dans le cerveau* avec la même dose d'une émulsion de rate infectieuse à 1/100 (cobaye V 14). Fièvre le 4^e jour. Mort accidentelle le 7^e jour. Le sang de C 81 est virulent pour le cobaye V 32 (6 cc. dans le péritoine. Incubation 10 jours. Lésions typiques ; passage positif).

Le lapin C 93 est inoculé *sur la cornée* préalablement scarifiée avec deux gouttes d'une émulsion à 1/10 de la rate du cobaye V 14. Pas de lésion locale. Pas de fièvre. 5 cc. de sang prélevés par ponction cardiaque le 7^e jour et inoculés au cobaye V 34 ne lui donnent ni fièvre ni immunité.

MALADIE EXPERIMENTALE DU HAMSTER

Nous avons utilisé le *Cricetus auratus*, précieux dans l'étude d'un certain nombre de virus. On sait que P. Lépine et Kreis n'ont pu obtenir de maladie nette chez cet animal avec le virus de la chorioméningite, tout en retrouvant parfois dans le cerveau l'agent inoculé.

Quatre hamsters adultes sont inoculés par différentes voies avec une émulsion à 1/10 de la rate du cobaye M 219.

Le hamster 684 f. l'est *par voie cérébrale* avec 0 cc. 1. Température normale (entre 37° et 38°) pendant la première semaine, sans aucun symptôme notable. Le 8^e jour au matin, l'animal a un peu de diarrhée, il se meut moins volontiers ;

le poil est hérissé, les yeux légèrement collés par une sécrétion séro-purulente ; température encore normale : 37°5. Le soir, on note du tremblement généralisé et de la rotation à droite autour du train postérieur. Température : 39°. Le lendemain, les symptômes persistent ou sont aggravés, en particulier la diarrhée est intense, et l'animal a peine à se mouvoir. L'hypothermie est nette (35°8). L'animal, chloroformisé à fond, montre une grosse rate, un épanchement pleural bilatéral, mais plus important à gauche, et une densification compacte des deux poumons dont les bords seuls semblent perméables à l'air. L'intestin grêle est congestionné ; le foie a une apparence normale.

Le sang et les organes (foie, rate, rein, cerveau, poumon) de l'animal sont très virulents. Inoculés sous la peau de cobayes aux doses de 1 cc. d'émulsions à 1/10, à 1/1.000, à 1/100.000 (en poids) ils ont provoqué des fièvres intenses après des incubations qui n'ont pas dépassé 3 jours $\frac{1}{2}$ même pour les dilutions à 1 pour 100.000. Les cobayes sacrifiés du 7^e au 10^e jour ont montré des lésions locales, spléniques et pulmonaires typiques.

Le hamster 685 f. reçoit *dans le péritoine* 0 cc. 5 de la même émulsion. Courtes poussées fébriles entre 38° et 38°6 aux 3^e, 4^e, 8^e jours. Diarrhée légère à partir du 10^e. Tendance à l'hypothermie (au-dessous de 37°) du 13^e au 16^e jour. Le 16^e jour, l'animal très amaigri n'est pas véritablement paralysé, ni ne présente de signes nets d'encéphalite. Mais il reste immobile, a le poil hérissé, les paupières collées par une sécrétion purulente. On le sacrifie. Rate grosse, foie muscade à tonalité claire, paraissant gras à la coupe. Les poumons ont un aspect analogue à ceux du précédent. Les anses intestinales ont tendance à se serrer les unes contre les autres, par épaississement et rétraction des divers mésos. C'est l'ébauche de la forme plastique signalée chez le cobaye. Le sang, le foie, la rate, les poumons et le cerveau inoculés sous la peau de cobayes aux doses de 1 cc. d'émulsion à 1/100 et 1/100.000 (en

poïds) déterminent une maladie typique avec des incubations au plus égales à 3 jours $\frac{1}{2}$.

Le hamster 684 m. est inoculé comme le précédent, mais *sous la peau*. La température reste normale entre 36°8 et 37°8 à part une poussée à 38° le 8^e jour. Aucun symptôme. Pas de réaction sous-cutanée. Sacrifié le 16^e jour, l'animal, non amaigri, ne montre ni œdème local, ni hémorragie. ni hypertrophie ganglionnaire. La rate est augmentée de volume ; le foie légèrement muscade, plus foncé et non nettement gras comme celui du précédent. Les poumons sont encore le siège d'une densification importante, à localisation surtout centrale. Cerveau, poumon, rate et foie, inoculés à doses fortes sous la peau du cobaye (de 2 à 5 cgr.) se montrent virulents.

Le hamster 685 M reçoit par *voie respiratoire après éthérisation* 0 cc. 2 de l'émulsion virulente. Pas de fièvre nette : un seul 38° le 8^e jour, 36°7 à 37°7 pendant le reste du temps. Aucun symptôme. Sacrifié le 20^e jour, l'animal est amaigri, la rate grosse, le foie à peine muscade et assez foncé. La densification pulmonaire, rose grisâtre, est si étendue, qu'on se demande comment l'animal pouvait respirer. Seuls les bords extrêmes des poumons sont encore roses et perméables.

Rate et poumons sont virulents pour le cobaye aux dilutions de 1/100 et 1/10.000 ; le sang ne l'est pas à 1/100.

MALADIE EXPÉRIMENTALE DE L'HOMME

La faible gravité de la maladie humaine d'où a été isolé le virus D autorise l'emploi de ce dernier à titre pyréthérapique.

Deux essais ont été faits :

M. M. est inoculé sous la peau de la région sus-épineuse avec 1 cc. d'émulsion à 1/100 de la rate du cobaye N 38. Les cobayes N 56 et N 57 reçoivent les mêmes quantités de virus et commencent le 4^e jour une fièvre qui dépassera 41° ; sacrifiés respecti-

vement le 11^e et le 4^e jour de leur pyrexie, ils présentent des lésions habituelles.

Dès la 48^e heure, la région sus-épineuse de M. M. est légèrement douloureuse et empâtée ; cette réaction locale persistera une semaine sans donner lieu à une hypertrophie ganglionnaire. Quatre jours après l'inoculation, élévation brusque de température à 39°2 le matin et 39° le soir. Pendant les 6 jours suivants, la fièvre oscille entre 38° et 38°5 avec un pouls relativement peu rapide. Apyrexie le 8^e jour.

Légère céphalée au début avec constipation. Sommeil à peu près normal. La langue est un peu blanche, l'abdomen souple, pas d'hypertrophie du foie ni de la rate. Pas d'albuminurie. Aucun symptôme neurologique. On ne fait pas de ponction lombaire.

Un prélèvement de sang effectué le premier jour de la fièvre permet d'en constater la virulence. Les cobayes C 93 et C 94, qui en reçoivent tous deux 5 cc. sous la peau, font une fièvre et des lésions typiques. L'urine émise au 2^e jour de la fièvre, dont 5 cc. sont inoculés sous la peau de chacun des 2 cobayes C 98 et C 99, ne donne au premier ni fièvre, ni immunité ; le second fait une maladie inapparente prouvée par l'immunité consécutive.

L'urine prélevée le 13^e jour, soit le lendemain de l'apyrexie, ne donne aux cobayes P 33 et P 35 ni fièvre, ni immunité.

A. A. reçoit sous la peau de la région deltoïdienne 1 cc. d'une émulsion à 1/40^e de la rate du cobaye P 217. Deux cobayes témoins N 119 et N 120, inoculés avec la même dose, font leur fièvre dès le 4^e jour ; sacrifiés le 14^e jour, à la fin le celle-ci, ils présentent les lésions habituelles.

Le surlendemain de l'inoculation, vers 18 heures, A. A. éprouve quelques frissons. La température était de 37°6 une heure auparavant. Le 4^e jour, elle est à 39°7 le matin avec un pouls à 108 bien frappé. Céphalée sus-orbitaire assez vive ; légère douleur au point d'inoculation qui est un peu empâté. Pas de réaction ganglionnaire. Ni toux, ni constipation, ni

diarrhée. Ventre souple, rate et foie non augmentés de volume, langue un peu blanche. Auscultation négative. Pas d'albuminurie. Pas de signes nerveux. Le soir : 40°3.

Le 5^e jour, 38°6 matin et soir ; pouls, 100. La céphalée a disparu ; le malade a bien dormi, il a eu une selle liquide ; langue à peine blanche ; un peu de toux, sans signes d'auscultation.

Le lendemain, la baisse thermométrique s'accroît : 37°6 et 38°, pouls, 88. Il y a eu, dans les 24 heures précédentes, 4 selles diarrhéiques. La langue reste à peine chargée. Ni céphalée, ni insomnie ; la toux a augmenté, sans expectoration. Rien à l'auscultation. Pas d'albumine dans les urines.

Le 7^e jour, 37°4 et 37°9 ; pouls, 80. Toujours un jeu de diarrhée et de toux. Sommeil satisfaisant. Examen somatique entièrement négatif. Tous les réflexes sont normaux : pas de Kernig, pas de raideur de la nuque. Malgré cela, on fait une ponction lombaire qui donne un liquide clair, avec 65 éléments au mmc., dont 98 % de polynucléaires ; 0 gr. 25 d'albumine et glucosie normale.

A partir du 8^e jour, la température est normale ; le pouls reste quelque temps à 60 ou au-dessous. Les selles sont encore diarrhéiques pendant 48 heures et la réaction sous-cutanée disparaît vers le 10^e jour. Convalescence sans incident.

Les examens hématologiques sont résumés dans le tableau suivant :

Jour	Leucocytes	Poly. neutro	P. Eosino	P. Baso	Gds Monos	Gds et Pts lymphos
1	6.200	54	2	0	1	43
5	11.800	69	3	0	1	27
9	4.826	48	1	0	2	49
12	5.610	40	0,5	0	0,5	59
16	13.640	55	3	0	0	42
20	9.920	38	4	0	1	57
24	7.196	40	2	0	1	57
28	9.300	45	11	1	1	42
35	6.760	38	3	0	0	59

Il y a eu une poussée leucocytaire précoce et brève, avec prédominance des polynucléaires, suivie d'une leucopénie et d'une lymphocytose nettes. L'équilibre sanguin antérieur est assez long à se rétablir. Le parallélisme de ces modifications avec celles qu'a montrées le sang des cobayes est manifeste.

Le sang, les urines et le L.C.R. de A. A. ont été examinés au point de vue de leur virulence.

Le sang est infectant au 4^e jour de l'inoculation (premier de la fièvre) pour les deux cobayes à qui on l'inocule sous la peau (C 258, 2 cc., fièvre et lésions typiques ; C 260, 1 cc., fièvre et immunité). Le 6^e jour, 3 cc. sont injectés sous la peau du cobaye C 276 et provoquent fièvre et lésions habituelles. Il en est de même le 9^e jour (cob. C 283, 1 cc. sous la peau, fièvre et immunité), le 17^e jour (cob. N 216, 3 cc. sous la peau, fièvre et lésions typiques), le 21^e jour (cob. N 279, 3 cc. dans le péritoine, fièvre, lésions habituelles, passage positif de la rate aux cobayes S 291 et S 297).

L'infection des cobayes par voie sous-cutanée est également réalisée avec les urines prélevées aux dates suivantes et dont aucune ne contenait d'albumine en quantité décelable par les réactifs habituels : 5^e jour (cob. C 261, 5 cc., fièvre et lésions : C 262, fièvre et immunité), 9^e jour (cob. C 284, 10 cc., et C 285, 5 cc., fièvre et lésions), 12^e jour (cob. V 255, 13 cc., et V 260, 7 cc., fièvre et immunité), 17^e jour (cob. N 217, fièvre irrégulière, sans immunité, et N 220, fièvre, lésions, passage positif à cob. C 356).

Le liquide céphalo-rachidien prélevé le 6^e jour et inoculé sous la peau des cobayes C 268 et C 272 donne au premier, qui en a reçu 1 cc., de la fièvre et des lésions typiques, tandis que le second, infecté pourtant avec 5 cc., fait quelques accès irréguliers non suivis d'immunité.

Ces deux maladies expérimentales diffèrent assez entre elles et avec la maladie naturelle dûe au même virus. On ne s'en étonnera pas si l'on se rappelle les formes très di-

verses que revêt chez l'homme la maladie expérimentale des porchers. Les faits les plus saillants sont, en dehors de la fièvre et de l'inflammation au point d'inoculation, la présence d'une réaction méningée notable malgré une symptomatologie nerveuse entièrement inexistante et la persistance du virus dans le sang de A. A.

CARACTERES DE L'AGENT PATHOGENE

L'agent infectieux responsable de la maladie dont nous venons d'étudier l'évolution est un virus dont voici les caractères principaux :

VISIBILITÉ. — Il n'est pas visible sur frottis, non plus que sur coupes, traités par les colorants d'aniline ordinaires, par le Giemsa ou ses dérivés. Les méthodes de Castaneda ou de Macchiavello, si pratiques pour la mise en évidence rapide des Rickettsias, ne réussissent pas mieux, non plus que l'imprégnation argentique ou l'ultra-microscope.

CULTURES. — Aucune culture d'un microbe particulier n'a été obtenue en ensemençant le sang, les organes ou les humeurs en bouillon, bouillon-sérum, sur gélose, gélose sanglante, en aérobiose ou en anaérobiose. Ces échecs se sont renouvelés un très grand nombre de fois, la stérilité du sang, de la rate ou de quelque autre organe des animaux sacrifiés ou morts ayant toujours été éprou-

vée. Des microbes d'infection secondaire n'ont cultivé que de façon exceptionnelle, et ce fait est d'autant plus à noter que, dans le même laps de temps, il n'en a pas été de même avec des cobayes inoculés de typhus historique.

Aucune tentative de culture en présence de cellules en survie, ou sur des œufs incubés n'a encore été faite.

FILTRABILITÉ. — Les émulsions centrifugées et filtrées sur bougies Chamberland perdent une grande partie de leur virulence. Le filtrat n'est cependant pas inactif, comme le montrent les expériences suivantes prises comme exemples.

Une émulsion à 1/100 en bouillon de la rate du cobaye M 99, centrifugée trente minutes à 6.500 tours et conservée 20 heures à + 4°, est inoculée à dose de 1 cc. sous la peau du cobaye S 77. Elle lui donne, au bout de 48 heures, une fièvre atteignant 41° à plusieurs reprises et durant 13 jours.

La même émulsion passée à travers une bougie L. 2, injectée à dose de 3 cc. sous la peau du cobaye S 72 lui donne, à partir du 5^e jour, une fièvre qui persiste 5 jours $\frac{1}{2}$.

Le filtrat de L 2, passé à nouveau sur L 3, est inoculé à la même dose de 3 cc. sous la peau du cobaye S 73, qui fait trois poussées fébriles. Les deux premières, les 10^e et 11^e jours et le 17^e jour, sont assez faibles ; la troisième, les 21^e et 22^e j., est plus forte et atteint 41°. Les deux cobayes S 72 et S 73 éprouvés au bout d'un mois sont immuns.

Le passage à travers des membranes calibrées de collodion (Gradocol) retient une quantité encore plus grande de virus.

Une émulsion à 1 % en bouillon de la rate du cobaye N 57 est centrifugée dans les mêmes conditions que la précédente

et fait preuve d'une virulence du même ordre. On la filtre successivement à travers 6 à 8 mm. de pâte de papier filtre, puis à travers une membrane de Gradocol de 800 $\mu\mu$ pour la dégrossir, et enfin à travers une membrane de 490 $\mu\mu$. Le dernier filtrat tel quel ou dilué, est inoculé (1 cc.) sous la peau de 5 cobayes. S 68 et P 46 qui ont reçu le liquide non dilué et dilué au 1/10 (soit 1/100 et 1/1.000 par rapport à la rate) meurent accidentellement. Le filtrat dilué à 1/100 (soit 1/10.000 de la rate) fait monter la température de C 156 du 9^e au 16^e jour, tandis que, dilué à 1/1.000 (1/100.000 de la rate), il donne à peine 40° le 16^e jour au cobaye S 75. C 156 et S 75 éprouvés le 47^e jour ne réagissent absolument pas.

Le cobaye P 55 qui a reçu du filtrat dilué à 1/10.000 (un millionième de la rate) fait un peu de fièvre du 16^e au 18^e jour, mais réagit nettement à l'épreuve.

Les filtrats ayant traversé une membrane de 160 $\mu\mu$, dilués ou non, ne donnent ni fièvre, ni immunité.

CONSERVATION. — D'une façon générale le virus D se conserve bien. On peut sans grand inconvénient garder à la glacière (+ 4°), un temps assez long avant de l'inoculer, une émulsion en eau salée (1) contenue en ampoules scellées.

L'émulsion à 1 % de rate du cobaye M 99, qui au bout de 20 heures montre la virulence indiquée au paragraphe précédent, inoculée 18 jours plus tard au cobaye S 96 provoque après 36 heures d'incubation une fièvre de 12 jours atteignant 41°8. (Lésions typiques inguinales, spléniques et pulmonaires après 24 heures d'apyrexie). La même émulsion, conservée de la même façon pendant 213 jours et inoculée à dose de 6 cc. sous la peau du cobaye N 188 lui donne au bout de 40 heures

(1) De préférence tamponnée à pH 7,5 par addition d'un mélange de phosphates.

une fièvre intense ; et des lésions typiques (sacrifié au 9^e jour avec 41°5).

La conservation paraît un peu moins bonne en récipients simplement bouchés au coton.

A des températures plus élevées, le virus perd peu à peu de son activité.

La même émulsion de rate à 1 % du cobaye M 99 maintenue pendant 18 jours en ampoules scellées à la température du laboratoire (18 à 20°) ne donne plus de fièvre au cobaye que du 8^e au 12^e jour (immunité consécutive). Maintenu le même temps à l'étuve à 37°, elle ne donne plus ni fièvre ni immunité.

La glycérine neutralisée et diluée à 50 % avec du sérum physiologique stérile, ou mieux phosphatée suivant la technique de P. Lépine, n'est pas nocive. Elle conserve bien les fragments d'organes qui y sont immergés. La mixture à parties égales de glycérine neutralisée et d'émulsion virulente à 1/100, maintenue de 18 à 213 jours à + 4° est, à volumes correspondants, aussi active que l'émulsion non glycerinée conservée de même. A la température de + 18° à + 20° et surtout de + 37°, l'adjonction de glycérine paraît plutôt favorable, le mélange glyceriné inoculé après 18 jours d'étuve donnant encore au cobaye une maladie légère suivie d'immunité.

La congélation et le maintien à -15-18° est le procédé de conservation que nous avons le plus couramment utilisé, à cause de la sûreté et des facilités de travail qu'il offre. Les rates, cerveaux, poumons de cobayes ou de singes, contenus dans de larges tubes bouchés au caoutchouc ou dans de simples boîtes de Petri, sont déposés dans un appareil Frigidaire réglé à la température indi-

quée. On peut très aisément prélever avec rapidité et à tout moment les fragments nécessaires et remettre en place l'organe restant qui n'a pas eu le temps de se décongeler. Il semble que la conservation est d'autant meilleure que le fragment d'organe congelé est plus volumineux. Bien qu'un accident ait ramené très au-dessus de 0° pendant près de 20 heures notre appareil frigorifique, nous avons noté entre autres les résultats suivants, après inoculation sous-cutanée au cobaye aux doses indiquées :

Conser- vation (jours)	Organe		Dose	Incubation	Fièvre
292	Cerv. du singe	117	10 cg.	3 jours	Intense
235	Cerveau cob.	T 89	1 gr.	—	Nulle (1)
235	Rate cob.	T 89	15 cg.	—	Nulle (2)
210	Rate cob.	S 63	20 cg.	2 jours $\frac{1}{2}$	Intense
210	Poumons cob.	S 64	20 cg.	4 jours	Intense
157	Rate cob.	R 55	20 cg.	3 —	Intense
111	Rate cob.	N 39	20 cg.	3 —	Intense

Les passages faits à partir des cobayes inoculés avec ces doses énormes d'organes conservés ramènent très rapidement la pleine activité du virus.

RÉSISTANCE A DIVERS AGENTS CHIMIQUES. — Le virus D qui se conserve bien, résiste également de façon remarquable à de nombreux agents.

La bile est sans action notable. Cette sécrétion peut d'ailleurs être virulente elle-même chez l'animal inoculé.

(1) Absence d'immunité consécutive.

(2) Immunité consécutive.

Mélangée à parties égales avec de la bile de bœuf neutralisée et stérilisée, une émulsion à 1/100 de rate du cobaye M 99 ne semble rien perdre de sa virulence, aussi bien après 20 heures qu'après 18 jours de séjour à + 4°. Après 213 jours à la glacière, la même émulsion biliée provoque une fièvre intense au bout de 6 jours d'incubation chez le cobaye N 192, qui en a reçu 1 cc. sous la peau ; l'animal, sacrifié après 3 jours de fièvre, présente des lésions typiques.

L'*acide phénique* à 1 et 2 ‰, agissant pendant 20 heures à + 4° sur une émulsion de rate à 1 %, atténue légèrement le virus (incubation plus longue, fièvre plus courte. A 5 ‰, l'effet est encore plus net et l'incubation est portée à 10 jours. A 10 ‰ la fièvre provoquée est presque négligeable, mais elle est toujours suivie d'immunité.

Il en va à peu près de même avec le *formol*.

A une émulsion à 1/1.000 de rate du cobaye M 66, on ajoute du formol aux doses de 2, 3, 4 et 5 pour 1.000, et on laisse 3 jours à + 4°. On inocule ensuite 2 cc. de chaque mélange sous la peau de deux cobayes. Alors que les témoins (virus non formolé) font une fièvre de 7 à 8 jours à partir du 4° ou du 6° jour, les cobayes virus-formol sont fébriles à partir du 8°-9° jour et pendant 5 jours au plus. Tous sont immunisés.

Quand on porte la dose de formol à 10 ‰, même si le temps de contact à la glacière n'est que de 20 heures pour une émulsion à 1/100, le cobaye inoculé ne fait pas de fièvre, mais devient immun.

L'action de l'*éther* et du *chloroforme* a été essayée dans les conditions suivantes :

A 10 cc. d'une émulsion à 1 % de rate virulente, on ajoute 4 cc. de chloroforme, on agite violemment et on laisse reposer

20 heures à + 4°. On inocule alors 1 cc. de la souche aqueuse sous la peau du cobaye S 85 qui ne fait ni maladie apparente ni immunité.

La même expérience est faite en remplaçant le chloroforme par l'éther.

Le cobaye S 86 atteint passagèrement 40° à 2 ou 3 reprises ; éprouvé, il ne réagit pas. Le virus n'a donc pas été entièrement détruit par l'éther.

DISTRIBUTION DANS L'ORGANISME ET EXCRETION DU VIRUS

En cours de maladie, le virus D se rencontre dans le sang. La façon dont il a été obtenu, au 3^e jour de fièvre, témoigne de ce caractère, qui n'est pas absolument fréquent parmi les virus. Dans l'infection expérimentale de M. M., on le décèle également 4 jours après l'inoculation alors que la fièvre commence à peine. Dans celle de A. A., il persiste beaucoup plus longtemps, jusqu'au 21^e jour, soit 13 jours après l'apyréxie.

Chez le singe, le cobaye, le lapin, la souris, le rat, le mérion, quel que soit le siège de l'inoculation, pourvu que la température de l'animal soit supérieure à la normale, le sang est assez régulièrement virulent ; il l'est moins constamment chez le chien.

En dehors des périodes fébriles, le virus ne se retrouve guère dans la circulation.

Bien qu'il n'ait pas été fait de titrages poussés à la limite, faute du nombre considérable de cobayes nécessaires, à en juger par les durées de l'incubation et de la

fièvre, le cobaye est l'animal dont le sang est le plus riche en virus.

Celui du cobaye A 78, prélevé au 4^e jour de la fièvre au 6^e de l'inoculation, est dilué au millionième. Un centimètre cube de cette dilution injecté sous la peau du cobaye T 96 lui donne une fièvre de 6 jours après 10 jours d'incubation.

Chez l'homme, le virus est moins abondant ; des doses de 3 à 5 cc. de sang ne font monter la température du cobaye qu'après 5 à 10 jours d'incubation.

Le sang du chien, quand il est virulent, détermine chez le cobaye une maladie encore plus atténuée, décelable souvent par la seule immunité qu'elle laisse.

Le virus a été décelé *dans le liquide céphalo-rachidien* de l'homme, du singe, du chien. La virulence du sang, surtout quand elle atteint un degré aussi élevé que chez le cobaye, entraîne la virulence de tous les organes, que l'on ne peut évidemment priver de sang au point de ne pas leur en laisser un millionième de centimètre cube, c'est-à-dire un millième de millimètre cube.

En fait tous les organes du cobaye sont riches en virus, et l'expérience montre que leur activité n'est pas dûe seulement au résidu de sang qu'ils contiennent.

Les organes d'un cobaye saigné à blanc (mais non perfusé avec du sérum physiologique) sont tous actifs à la dose d'un centimètre cube d'une dilution au millionième en injection sous-cutanée à des cobayes neufs ; les émulsions de cerveau, de rein, à dilutions égales à celles du sang, provoquent des maladies à incubation un peu plus longue ; il est donc probable qu'ils sont un peu moins riches en virus. Par contre aux émulsions de

poumon, de rate, de foie, même après une centrifugation de 10 minutes à 6.000 tours qui les prive d'une grande quantité de cellules et par conséquent de virus, correspondent des incubations en moyenne plus courtes et des maladies plus intenses. Les émulsions centrifugées de rate au dix millionième sont encore fortement virulentes, ce qui nous conduit à effectuer les passages de façon habituelle avec des broyages de rate.

Les organes du singe fébrile (cerveau, rate, surrénales) possèdent une activité au moins comparable à celle des organes de cobaye. Les organes de rat sont un peu moins virulents ; ceux de souris encore moins.

Lorsque la température est revenue à la normale, la virulence des organes a baissé considérablement ou disparu. On retrouve cependant plus facilement l'agent infectieux dans les viscères que dans la circulation.

Certains animaux ont été sacrifiés au cours de la convalescence et leurs organes inoculés à fortes doses sous la peau d'autres cobayes. Nous citerons entre autres les suivants (quantités d'organes inoculés entre parenthèses) :

La rate du cobaye D 72 sacrifié au 6^e jour de l'apyrexie est virulente (9 gr. 15), de même que son cerveau (0 gr. 10).

Les cobayes L 11 et A 18 sont mis à mort au 13^e jour de leur apyrexie : la rate (0 gr. 25) et le cerveau (1 gr.) sont virulents ; la moitié d'une surrénale de L 11 est inactive, comme les reins L 11 et A 18 (0 gr. 50).

Les cobayes C 40 et T 99 sont sacrifiés au 15^e jour de leur apyrexie : rate (0 gr. 50) et cerveau (0 gr. 50) non virulents ; reins virulents (0 gr. 75).

Le cobaye C 49 inoculé par voie respiratoire est sacrifié

15 jours après la fin de sa fièvre ; le poumon est encore virulent (0 gr. 15).

Il y a lieu de remarquer les quantités considérables d'organes employées dans ces expériences. Malgré cela, la plupart des cobayes n'ont réagi qu'après une incubation assez longue, mettant en évidence la faible quantité du virus résiduel.

Il en est de même pour les animaux autres que le cobaye.

Les rates de souris 26 r., 26 rb., 28 b. sont virulentes vingt jours après l'inoculation, de même que les cerveaux des deux premières ; le cerveau de 28 b. ne l'est plus. Après 30 jours, les reins, le foie et la rate de la souris 669 R, le poumon, la rate, le foie de la souris 670 j. sont nettement virulents, les cerveaux des deux animaux le sont moins. Des souris 689 et 690 sacrifiées au bout de 40 jours, seuls contiennent encore le virus, le foie, la rate, le poumon. Les poumons des rats 10 sm. et 10 l. sont actifs respectivement 12 à 33 jours après l'inoculation, le cerveau du rat 11 org. l'est à la dilution du millièrne au bout de 28 jours. Celui du lapin C 43 a perdu son activité 41 jours après l'inoculation faite par voie cérébrale.

Le virus peut se rencontrer encore au cours de la maladie dans diverses sécrétions, qui constituent des voies normales d'élimination. La *bile* du singe 117 sacrifié en pleine maladie est très virulente, celle de cobayes, dans les mêmes conditions, l'est rarement.

L'*urine* humaine (M. M.) prélevée le 2^e jour de la fièvre (5 jours après l'inoculation expérimentale) et inoculée à la dose de 5 cc. sous la peau des 2 cobayes C 98 et C 99 en infecte un seul (maladie inapparente, immunité con-

séculive). Six jours plus tard une nouvelle inoculation dans les mêmes conditions n'infecte aucun des deux cobayes. Celle de A. A. reste virulente plus longtemps et infecte le cobaye jusqu'au 17^e jour.

L'urine de cobaye malade est rarement virulente.

Au début de la convalescence du cobaye, le virus peut se rencontrer de façon inconstante et en petite quantité dans la bile. C'est ce qui a lieu chez S 3, sacrifié le 2^e jour de l'apyrexie. $\frac{1}{2}$ cc. de sa bile ne donne pas de fièvre au cobaye V 54, mais l'immunise. Par contre, de la bile prélevée aux dates suivantes et inoculée aux doses indiquées n'a donné ni fièvre ni immunité : 3^e jour d'apyrexie (2 échantillons : $\frac{3}{4}$ et 1 cc.) ; 4^e jour ($\frac{1}{2}$ cc.) ; 13^e jour (1 cc. et 1/10 cc.) ; 15^e jour (1 cc.).

L'urine du cobaye convalescent est tantôt virulente, tantôt sans activité. Au 3^e jour d'apyrexie 2 cc. $\frac{1}{2}$ d'urines de S 100 ne donnent ni fièvre ni immunité. A la même date, 2 cc. $\frac{1}{2}$ d'urines du cobaye V 36 donnent rapidement une forte élévation thermique suivie d'immunité.

L'élimination du virus par la bile fait supposer qu'il peut se trouver dans les *matières fécales*. C'est ce qui a été vérifié dans l'expérience suivante.

Le hamster 685 f. a été inoculé dans le péritoine avec 0 cc. 5 de rate du cobaye M 219, diluée à 1/10. Il fait un peu de fièvre et est sacrifié au 15^e jour. Juste avant de le sacrifier, on recueille avec une pince stérile deux crottes très légèrement diarrhéiques, au moment même où elles commencent à sortir de l'anus. Elles sont broyées dans 4 cc. d'eau salée stérile et centrifugées à fond. Le liquide très trouble obtenu est inoculé sous la peau des deux cobayes V 202 et

V 211. V 202, qui avait reçu la quantité correspondante à une crotte et demie, meurt de septicémie au bout de 3 jours ; V 211 fait d'emblée trois jours de fièvre ; puis après cinq jours d'apyrexie, il monte à 40°9 et 41°4. Sacrifié le 11^e jour, il présente une lésion locale hémorragique, un gros ganglion lombaire, une grosse rate, des poumons très congestionnés. Le sang et la rate, cultivés en bouillon restent stériles. La rate de V 211, inoculée aux cobayes N 290 et N 291 leur donne, après 48 heures d'incubation, une maladie typique.

Matières fécales et urines virulentes pourraient théoriquement amener des contaminations entre animaux de la même cage. Nous n'avons jamais constaté cette éventualité. Il faut aussi se méfier d'une contamination possible des animaux par le thermomètre ; pour l'éviter, l'instrument est plongé après chaque prise de température, successivement dans de l'eau de Javel pure, de l'alcool, du chloroforme, essuyé et enduit d'huile de vaseline avant la prise de température suivante.

Une autre voie normale d'élimination du virus est la *muqueuse nasale*.

Les cobayes P 166, P 244, P 254, N 193 ont été inoculés sous la peau avec divers organes virulents. Treize jours plus tard, alors qu'ils sont fébriles depuis 7 à 9 jours, on fait passer quelques centimètres cubes de sérum physiologique dans leurs fosses nasales, en injectant le liquide par une narine et en le recueillant par l'autre. On emploie dans ce but une seringue sans aiguille, dont l'extrémité mousse, soigneusement vérifiée, ne risque pas d'écorcher la muqueuse nasale des animaux.

Le liquide de lavage est instillé sous anesthésie à l'éther dans le nez des cobayes C 264, C 265, C 267. Les deux derniers

font de la fièvre après 7 et 10 jours ; sacrifiés 13 et 14 jours après l'inoculation, ils ont tous deux une grosse rate, de la congestion pulmonaire généralisée avec des zones arrondies d'hépatisation. Le cobaye C 264 fait après 13 jours d'incubation une fièvre de 5 jours ; éprouvé par la suite, il se montre immun.

IDENTITÉ DU VIRUS

Si l'on compare la description que nous avons faite de la maladie du cobaye inoculé de virus D à celles de Traub, Findlay et Stern, P. Lépine, Sautter et Kreis, qui se rapportent à l'infection de cet animal par le virus de la chorio-méningite lymphocytaire, on ne peut qu'être frappé de leur similitude. Les durées d'incubation sont du même ordre, les courbes fébriles superposables, les symptômes identiques pendant la maladie ; dans les lésions, l'œil ne peut noter la moindre différence et la répartition de la virulence dans le sang et les organes est analogue.

Par rapport à la mortalité qu'elle détermine chez le cobaye, notre souche se place entre celles de C.M.L. qui sont exceptionnellement mortelles pour cet animal et celles qui le tuent à coup sûr. Cette léthalité du cobaye n'est d'ailleurs qu'un caractère contingent : la souche « Paris » de P. Lépine, très peu active au début, a acquis une virulence telle qu'aucun cobaye inoculé ne

survit (1). Cette dernière qualité était celle des cerveaux de souris que nous a très obligeamment remis P. Lépine. Elle a été conservée au cours des passages sur souris et cobayes qui nous ont permis de comparer les deux virus.

Il est inutile de rapporter au long nos expériences. La plus grosse différence est que la bile des cobayes ne s'est jamais montrée virulente après inoculation de virus chorio-méningitique, alors qu'elle l'a été parfois après infection par le virus D. Pour le reste, il pourrait suffire d'avouer que nous serions incapable, si nous ne l'avions noté au moment de l'inoculation, d'indiquer sans passage ultérieur à la souris auquel des deux virus ressortit la maladie d'un cobaye donné, vivant ou mort. Nous désirons cependant insister sur l'identité absolue des lésions locales déterminées chez cet animal par l'introduction sous la peau de l'un ou de l'autre agent infectieux, lésions auxquelles les savants qui se sont occupés de la C.M.L. n'ont pas accordé, nous semble-t-il, toute l'importance qu'elles méritent.

Nous ne trouvons pas dans la façon dont les singes, rats et lapins répondent au virus D ou à celui de la chorio-méningite de fait qui justifie une distinction entre les deux.

Le chien, que Findlay et Stern n'ont pu infecter de C.M.L., a donné à P. Durand dans des expériences inédites avec la souche Paris des résultats absolument superposables à ceux que nous avons décrits chez cet ani-

(1) Rappelons qu'entre les mains de P. Lépine, la souche Paris s'est montré immunologiquement identique aux souches américaines et anglaises d'Armstrong et Findlay.

mal après inoculation de virus D : fièvre passagère et méningite à lymphocytes.

Seule la souris permet de séparer les deux virus. Jamais, en effet, nous n'avons constaté chez ce petit rongeur les symptômes nerveux si caractéristiques de la C.M.L., même après inoculation intracérébrale de virus D aussi concentré qu'une émulsion à 50 % de rate de cobaye.

Nous savons que, des souches de C.M.L. qui se comportent de façon classique vis-à-vis de la souris, il en est qui sont inactives chez le cobaye. Pourrait-on admettre inversement que parmi les souches virulentes pour le cobaye, quelques-unes, dont notre virus D ferait partie, seraient inactives chez la souris ?

En réalité, le problème ne doit pas se poser ainsi. Il ne s'agit pas d'un manque ou d'une cessation d'adaptation à une espèce animale donnée pour laquelle le virus serait indifférent. La souris est parfaitement sensible au virus D. Traub a indiqué que, sous l'action du virus chorio-méningitique, la rate de la souris atteint jusqu'à deux fois le volume normal. Avec le virus D, l'hypertrophie splénique se caractérise par un coefficient de 4 à 8 et souvent de 15 à 20. Les lésions pulmonaires sont également intenses. Si les méninges et les plexus choroïdes sont rarement et peu profondément frappés après introduction du virus D par d'autres voies, l'inflammation de ces organes après inoculation cérébrale ne le cède ni en fréquence ni en intensité à celle qu'y provoque la chorio-méningite vraie. Et cependant nos souris n'extériorisent par aucun symptôme frappant l'atteinte de leur système nerveux. Cette atteinte interdit d'admettre que notre

souche, qui a conservé ses affinités méningotropes pour le chien et le singe, les a changées en affinités viscérotropes pour la souris. Pareille hypothèse tombe d'ailleurs devant l'échec complet des essais d'immunité croisée entre les deux virus.

Les deux cobayes T 60 et T 67 infectés de virus D, ont fait à partir du 5^e ou du 6^e jour une fièvre élevée de 8 jours 71 et 54 jours ensuite, on les inocule sous la peau, le premier avec 1 cc., le second avec 1/10 de cc. de sang du cobaye M 1 (chorio-méningite). Après moins de 60 heures d'incubation, tous deux commencent une maladie hautement fébrile à laquelle ils succombent le 12^e jour. Les témoins meurent moins de 24 heures plus tôt ou plus tard, après une fièvre semblable et avec des lésions identiques.

Il n'est donc pas possible d'identifier le virus D à celui de la chorio-méningite lymphocytaire.

Mac Callum, Findlay et Scott ont décrit deux souches de provenance humaine, dont l'une seule est pathogène pour le cobaye et qui toutes deux provoquent chez la souris, avec une incubation cependant plus brève, le même syndrome que la C.M.L. typique. L'immunité croisée existe entre les deux souches, mais non entre elles et la C.M.L. N'ayant pas eu entre les mains d'échantillon de ce virus, à qui les auteurs donnent le nom de pseudo-chorio-méningite lymphocytaire, nous n'avons pu chercher ses rapports immunologiques avec le virus D. Mais là encore la différence des symptômes déterminés chez la souris par les deux virus pour des lésions histologiques très voisines, nous fait penser qu'ils ne peuvent être considérés comme identiques.

Un autre virus à affinités méningées et pulmonaires a été étudié par Th. Francis et T. P. Magill qui l'ont isolé de furets ayant reçu en instillation nasale et sous-anesthésie, au cours d'épidémies humaines ressemblant à la grippe, des produits de lavage de gorge de sujets malades.

Les passages ultérieurs par la même voie nasale chez le furet et la souris provoquent une maladie à symptômes surtout respiratoires et presque toujours fatale. La mort survient en 2-3 jours pour de fortes doses de virus et en 2-3 semaines pour des dilutions à 1/10.000 ou encore moins riches. On trouve à l'autopsie une hépatisation caractéristique gris-rosé, de consistance ferme, caoutchoutée et même cartilagineuse. Le virus est répandu dans le sang, le poumon, la rate et le foie.

Inoculée sous le cerveau, la souris meurt de paralysie du train postérieur, avec parfois des convulsions terminales. L'évolution a lieu en 2-3 jours lorsque le matériel infectieux est dilué à 1/100, en 6-10 jours au 1/1.000.000. Le cerveau est œdémateux avec lésions de méningite généralisée ; il n'y a pas de pneumonie.

Après injection sous-cutanée, la souris présente des lésions locales granulomateuses à la suite desquelles la peau peut s'ulcérer. Des paralysies apparaissent et la mort s'en suit dans 15 % des cas, sans lésions pulmonaires.

Le singe inoculé dans le cerveau fait dès la 48^e heure de la fièvre et des paralysies qui guérissent. Le L.C.R. contient 500 à 1.000 éléments, en majorité lymphocytes ; il est virulent. Inoculé sous la peau de l'aîne, il réagit

par une courte fièvre et de l'hypertrophie ganglionnaire locale. La guérison est rapide. Le cobaye infecté par voie cérébrale présente après 48 à 72 heures une température élevée pendant 4 à 5 jours. Il maigrit, mais n'est pas paralysé. La mort est rare et a lieu du 5^e au 6^e jour. Après introduction du virus sous la peau, on note un épaississement de celle-ci et une induration des ganglions régionaux.

Méningite, hépatisation pulmonaire, lésions locales conjonctives et lymphatiques, amaigrissement, sont faits communs au virus D et au curieux virus de Francis et Magill, dont nous n'avons pas eu d'échantillon et avec lequel il nous a par conséquent été impossible de tenter des expériences d'immunité croisée. A examiner les choses de près, les différences sont cependant notables entre les deux virus. Pour l'américain, les lésions dépendent surtout de la voie d'introduction : pas de pneumonie s'il n'est pas instillé par voie respiratoire, pas de méningite, ou du moins syndrome nerveux rare, s'il est inoculé en dehors du cerveau. Par voie cérébrale ou respiratoire, il tue presque toujours la souris, à l'inverse du nôtre. Chez le même animal, il provoque par voie sous-cutanée une réaction locale, ce dont le virus D est incapable dans cette espèce, même à doses énormes. Francis et Magill ne notent pas l'hypertrophie de la rate de la souris et du cobaye, pratiquement constante chez nos animaux, non plus que l'hépatisation pulmonaire du cobaye, que nous rencontrons quelle que soit la voie d'inoculation. Les caractères mêmes de l'hépatisation du furet et de la souris sont bien particuliers et nous n'avons jamais constaté chez nos animaux la consistance ferme,

caoutchoutée et même cartilagineuse décrite par les savants américains.

Toutes ces différences nous empêchent d'admettre l'identité des deux virus.

Laigret et Roger Durand ont décrit un virus isolé des souris et retrouvé chez l'homme au cours de la vaccination contre la fièvre jaune. Ce virus jouit d'affinités méningées au moins chez l'homme et chez le singe. Bien que les auteurs tunisiens l'aient rapproché du virus de la chorio-méningite sans l'identifier avec ce dernier, il semble que Kreis, dans sa thèse, ait quelque tendance à admettre cette identification à l'appui de laquelle aucun essai immunologique à notre connaissance n'a été publié.

Le virus en question a été isolé en inoculant dans le péritoine de cobayes des cerveaux de souris d'un élevage apparemment sain, chez qui il vivait « d'une manière quasi indéfinie » en « inframicrobe habitué ». Il a été ensuite conservé par passages cerveau de cobaye à péritoine de cobaye.

Il a été obtenu aussi du liquide céphalo-rachidien d'un homme vacciné contre la fièvre jaune (avec un vaccin fait de cerveau de souris) et atteint d'une réaction méningée bénigne et d'un sujet non vacciné, sans rapports soricins indiqués. Le virus serait assez ubiquiste, puisque les mêmes auteurs l'ont encore retrouvé en inoculant à des cobayes des broyages d'embryons de poulets.

« La maladie expérimentale du cobaye a une incubation moyenne de six jours, elle dure en général le même temps. Elle s'accompagne d'un amaigrissement marqué et environ 40 % des cobayes meurent au déclin de la

courbe thermométrique. Ceux qui guérissent sont immunisés contre une deuxième inoculation. »

Les petits singes sont irrégulièrement sensibles. L'un d'eux inoculé dans le cerveau a fait une réaction méningée légère.

Le lapin et le rat font une maladie inapparente.

« L'inframicrobe des souris traverse les filtres avec la même aisance que le virus amaril ». Ce virus ayant été isolé dans l'Institut même où nous travaillons et où les élevages de souris ne sont pas rigoureusement indépendants, les courbes fébriles qu'il provoque chez le cobaye n'étant pas sans ressembler à celles qui appartiennent au virus D, nous sommes obligé de comparer les deux « inframicrobes ». Du fait même de leur technique de passage cerveau-péritoine, Laigret et R. Durand n'ont pu noter de réaction sous-cutanée locale. S'il y avait identité des deux virus, il est peu probable que leur eussent échapper l'hypertrophie de la rate et les lésions d'hépatisation pulmonaire qu'ils ne signalent pas. Notre virus, d'autre part, est loin de traverser les filtres aussi facilement que le virus amaril : il est nettement plus volumineux. Mais les caractères immunologiques très particuliers attribués à leur virus par Laigret et Roger Durand nous permettent de le différencier du nôtre sans discussion possible. En effet, « les animaux guéris du virus des souris ne sont pas immunisés contre le typhus. Inversement, les typhus murins et le typhus historique immunisent contre le virus habitué des souris ».

En ce qui concerne le virus D, il est bien exact et cela se comprend, qu'il n'immunise pas contre les typhus murins (mexicain et Tunis I de H. Sparrow) ou historique

(souche Rabta de Ch. Nicolle). Il est aussi exact et aussi naturel que les mêmes typhus n'immunisent pas contre lui. Nous en avons acquis expérimentalement une telle certitude, que nous avons fini par utiliser souvent, à la place de cobayes neufs, des cobayes convalescents de typhus, quand il s'agissait d'une simple recherche de virus D et non de passages en vue de conserver la souche. Les inoculations positives ainsi obtenues se comptent par douzaines ; elles ne diffèrent guère que par une hypertrophie plus notable de la rate des inoculations du même virus sur cobayes neufs.

D'autres virus sont connus par leur affinité neurotrope ou pulmonaire, mais se distinguent nettement du nôtre au moins chez certains animaux. Nous ne citerons que pour mémoire celui de la maladie de Nicolas-Favre et celui de la psittacose. L'un et l'autre ne déterminent chez le cobaye que des maladies légères et sont difficiles, sinon impossibles à conserver uniquement par passages sur cette espèce. Ils n'y provoquent pas de lésions pulmonaires, sauf pour le premier, après injection *in situ*.

Nous en arrivons, par élimination, à ne pouvoir identifier le virus D avec aucun autre connu, et à lui attribuer une autonomie complète.

LE VIRUS DANS LA NATURE

La souche que nous avons seule étudiée jusqu'à maintenant n'est pas restée un échantillon isolé. En fait, depuis quelques mois deux autres virus ont été isolés et conservés, qui jouissent de l'immunité croisée avec la première (1) et en ont tous les caractères, à de très faibles différences individuelles près.

De plus, dans un certain nombre d'autres cas, à défaut de la preuve absolue que constitue l'isolement d'une souche, il y a de très fortes présomptions de croire à la présence d'un virus immunologiquement identique aux précédents.

Souche « laurate ».

Le 14 Mars, en collaboration avec le Dr Findlay, P. Durand essaye de vacciner des cobayes contre le typhus par injection péritonéale d'un broyage de poumons de souris sur lequel a agi à des taux divers et pendant des temps différents, une solution de laurate de soude. Des 12 cobayes ainsi traités, le

(1) Et aussi entre elles.

cobaye P 110, après une poussée thermique du 15^e au 16^e jour fait une fièvre aux environs de 40°5, du 24^e au 28^e jour. Le 27^e jour, on lui prend par ponction cardiaque 4 cc. de sang qui sont inoculés dans le péritoine des cobayes P 140 et P 141. Tous deux font de la fièvre à partir du 4^e et du 5^e jour. P 141 est sacrifié le 13^e jour après 7 jours de fièvre et 2 jours d'apyrexie. Il présente une rate un peu grosse et des poumons fortement congestionnés avec des zones d'hépatisation. La rate du cobaye P 141, broyée et diluée à 1/100 est injectée à dose de 1 cc. sous la peau des cobayes V 50 et S 77, inoculés respectivement 105 et 141 jours auparavant de virus D et ayant fait la maladie correspondante, et les cobayes neufs P 168 et P 169. — V 50 et S 77 ne réagissent pas ; P 168 et P 169 font, à partir du 5^e jour, une fièvre élevée. Le premier, sacrifié le 5^e jour de fièvre laisse voir un gros ganglion inguinal entouré d'une zone d'œdème hémorragique avec fonte nécrotique ; le ganglion lombaire du côté inoculé est hypertrophié ; la rate, un peu grosse est très friable ; les poumons présentent de larges plaques d'hépatisation. P 169 après 6 jours de fièvre, guérit. Eprouvé par la voie sous-cutanée 26 jours après avec 1 cc. de rate à 1/40 du cobaye V 167 (virus D), il ne réagit pas, tandis que les cobayes neufs V 185 et V 186 font une maladie typique après 3 et 5 jours d'incubation.

Plusieurs autres essais entre la souche laurate et la souche D ont confirmé l'existence d'une immunité croisée.

Des 12 cobayes traités par les mélanges laurate de soude poumons de souris typhiques et éprouvés entre temps par inoculation de virus typhique, sept seulement subsistaient deux mois plus tard. Ils ont été éprouvés à ce moment par une inoculation de virus D sous la peau (1 cc. de rate à 1/100 du cobaye V 152). Tous ont réagi de façon typique à l'exception du cobaye P 110, ce qui démontre d'une part, que le virus isolé provenait bien de P 110 et que d'autre part, des sept cobayes éprouvés, seul P 110 était infecté du virus en question, identique au virus D.

Souche singe 108.

Au cours d'une série d'essais comparatifs sur la valeur immunisante de vaccins préparés à l'aide de Rickettsias provenant de poumons de souris et traités par divers agents antiseptiques, le magot 108 est inoculé avec un vaccin formolé et aluminé, les 24 février, 1 mars et 7 mars. Il n'y a aucune réaction générale ou locale, mais seulement un peu de diarrhée, non rare à ce moment dans la singerie. Le 15 avril, le singe est éprouvé en même temps que 5 autres vaccinés de diverses façons et 2 singes témoins, par injection d'1 cc. d'un mélange de caillots sanguins broyés de cobayes typhiques. Les singes témoins font un typhus typique grave (mortel pour l'un d'eux). Les vaccinés ne réagissent pas du tout à l'exception du singe 108, dont la diarrhée continue et qui commence le 4 mai (20^e jour de l'épreuve) la fièvre suivante :

	M.	S.
4 mai	39°5	40°5
5 mai	39°9	
6 mai	39°6	40°4
7 mai	39°8	40°4
8 mai	39°8	40°4
9 mai	39°5	40°
10 mai	39°5	39°5

Le 4 mai (soir), on fait une ponction cardiaque et 5 cc. de sang sont inoculés dans le péritoine des 2 cobayes V 162 et V 163 qui tous deux deviennent fébriles à leur tour le 7^e jour de l'inoculation. Sacrifié après 2 jours de maladie, V 162 montre une grosse rate recouverte par place d'un enduit blanchâtre, et des poumons avec plages d'hépatisation ; V 163 sacrifié 5 jours plus tard présente encore une très grosse rate avec périsplénite ; il a un épanchement visqueux peu abondant dans le péritoine et autour des testicules, un épanchement péricardique ; les poumons sont à peine congestionnés.

Les passages faits avec la rate de ces 2 cobayes reproduisent chez des cobayes neufs la maladie et les lésions dues au virus D, y compris les inflammations locales après injection sous-cutanée.

Les cobayes convalescents de typhus historique ou murin réagissent de même tandis qu'il y a immunité croisée entre le virus 108 d'une part, le virus D et le virus laurate d'autre part.

En dehors de l'isolement des 2 souches précédentes, on a relevé de très fortes présomptions de l'existence d'un virus identique immunologiquement au virus D dans les circonstances suivantes.

Souris de l'élevage Abd-el-K.

20 souris neuves de cet élevage sont sacrifiées et leurs rates recueillies par groupe de 5. Chaque groupe de rates est broyé et inoculé dans le péritoine d'un cobaye (V 1 à V 4). Les cobayes V 2 et V 4 ne font pas de fièvre ; éprouvés 30 jours plus tard (virus D), ils sont pleinement réceptifs.

Le cobaye V 1 fait au bout de 20 jours une poussée fébrile de 4 jours atteignant 40°5. Epruvé avec le virus D, 30 jours après l'inoculation des rates, il ne réagit pas du tout

Le cobaye V 3 fait quelques poussées fébriles irrégulières, puis, à partir du 18^e jour, atteint ou dépasse 40° pendant 6 j. Epruvé comme les précédents, 30 jours après la première inoculation, il est immun.

Un virus identique au virus D se trouvait donc au moins deux fois, sinon plus, dans les 20 souris de l'élevage examiné. Il est intéressant de noter que les deux souris qui ont fourni plus tard les poumons typhiques de l'expérience « laurate » décrite plus haut, provenaient du même élevage.

Cobayes vaccinés avec des produits provenant de la souris.

Enfin un assez grand nombre de cobayes (132) traités par différents vaccins provenant de poumons de souris, et éprouvés par le virus du typhus historique, l'ont été aussi par le virus D, quatre d'entre eux, dont deux avaient fait une réaction fébrile, se sont montrés immuns à l'épreuve par le virus D. Il est donc probable que les vaccins en question (vaccins aluminés) contenaient à l'état vivant un virus identique au virus D et dont la provenance doit être évidemment recherchée dans les souris qui avaient servi à la préparation de ce vaccin.

*
* *

Ce qui précède montre, de façon tantôt certaine, tantôt très probable, la présence de virus identiques au virus D chez certaines souris ou chez des animaux (singes ou cobayes) traités par des vaccins provenant de souris.

Ce serait donc une maladie naturelle à cette espèce, comme l'est la chorio-méningite.

Un point est à préciser, très important en ce qui concerne le rôle du virus, chez l'homme la souche obtenue par inoculation du sang de P. Durand dans le péritoine de cobayes a-t-elle bien son origine dans ce sang ; est-il sûr que le virus ne se trouvait pas chez les trois cobayes antérieurement à l'inoculation ?

Il est déjà bien peu probable que ces trois cobayes aient fait ensemble, et consécutivement à l'inoculation, une maladie identique alors que rien de pareil n'a été vu à la même époque chez les animaux du même élevage.

Mais une réponse plus positive est fournie par l'étude des propriétés du sérum de P. Durand, prélevé à divers moments, au cours de la maladie et pendant la convalescence, étude faite d'ailleurs comparativement avec celle du sérum du sujet A. A. inoculé expérimentalement, et du sérum de deux lapins immunisés par injections dans le péritoine de grosses doses de virus (rate de cobaye infecté).

Le sérum de convalescent, au moins lorsqu'il est prélevé assez tard après la fin de la fièvre jouit de *propriété neutralisantes* vis-à-vis du virus. Il en est de même du sérum des lapins immunisés. Comme cela se passe entre virus du typhus historique et sérum de convalescent de typhus, la neutralisation n'est pas toujours complète. On constate le plus souvent un allongement de la période d'incubation et un raccourcissement de la maladie expérimentale du cobaye. Voici par exemple une expérience.

La rate du cobaye M 31 est broyée, diluée à 1/100 dans du sérum physiologique et centrifugée pour éliminer les particules trop grosses. On en fait ensuite des dilutions décimales croissantes qui, à doses de 1 cc., sont mélangées à volume égal aux sérums à essayer (sérum d'homme normal dans la série témoin). Les mélanges sont maintenus 1 heure à 28° avant d'être inoculés chacun dans le péritoine d'un cobaye.

Le tableau suivant donne quelques résultats :

Rate diluée à :	Sérum témoin		Sérum Durand		Mélange de sérums lapins C 46 et C 47	
	Incu- bation	Durée de la fièvre	Incu- bation	Durée de la fièvre	Incu- bation	Durée de la fièvre
1/100	2 j. $\frac{1}{2}$	8 j.	Maladie inapp.		7	4
		Sacrifié	Immun. conséc.		7	4
1/1.000	3 j.	11 j.	9	3	8	5
1/10.000	Mort d'accident		10	4	9	2
1/100.000	9	5	12	3	Mort d'affect.	
1/1.000.000	8	6	10	10	intercurrente	

La réaction apparaîtrait encore plus nette à l'examen des courbes thermiques qui, dans l'ensemble, s'élèvent beaucoup moins haut chez les animaux traités par le mélange comprenant du sérum de convalescent ou de lapin immunisé.

Le tableau ne comprend qu'un sérum de convalescent, recueilli 80 jours après la fin de la maladie. Les sérums recueillis soit le 3^e jour de la maladie, soit 4 jours après la défervescence, se comportent comme des sérums normaux.

Une autre propriété des sérums de convalescents et des sérums de lapins immunisés consiste dans leur pouvoir de *fixation de l'alexine* en présence d'un antigène constitué par une émulsion à 1/100 de poumon hépatisé de cobaye infecté par le virus D. La technique est rigoureusement celle qui a été suivie par P. Lépine, Mollaret et Sautter pour la même réaction, au cours de la chorio-méningite lymphocytaire.

La fixation de l'alexine a été nulle avec les sérums de sujets sains, avec les sérums de P. Durand et A. A. prélevés pendant ou avant la maladie, de même qu'avec les sérums de lapins neufs.

Elle a été très nette avec les sérums de P. Durand 4 jours et 80 jours après la défervescence et de A. A. 17 jours après la défervescence, ainsi qu'avec les sérums des lapins C 46 et C 47.

Les propriétés des sérums de P. Durand témoignent ainsi que le virus isolé provenait bien du sujet et qu'une maladie humaine naturelle peut être due à ce virus.

*
* *

Il serait sans doute actuellement aventureux de prédire que le virus D, maladie d'origine murine comme la chorio-méningite lymphocytaire, va prendre la même importance en pathologie humaine que cette dernière. Deux points sont cependant à retenir dans l'expérimentation animale ou humaine, susceptibles d'attirer l'attention sur des syndromes humains d'étiologie douteuse et au sujet desquels il serait utile de rechercher le rôle du virus D. C'est tout d'abord la possibilité de méningites lymphocytaires curables, fréquentes chez les animaux et reproduites chez l'homme. C'est enfin l'affinité pulmonaire du virus. Evidente dans l'expérimentation animale, elle ne s'est pas manifestée dans l'observation ou l'expérimentation humaines, ce qui ne veut pas dire qu'elle ne puisse se produire.

Dans les cas suspects, les notions exposées plus haut permettront d'élucider l'étiologie, soit au moment de l'affection fébrile par les inoculations aux cobayes, soit au cours de la convalescence ou plus tardivement par l'étude des propriétés du sérum et en particulier la réaction de fixation de l'alexine en présence d'antigène au poumon de cobaye.

CONCLUSIONS

Le virus D, dont nous avons décrit les caractères principaux, est un virus filtrant à affinités méningée et pulmonaire, qui a été isolé au cours d'une maladie de laboratoire à symptomatologie purement fébrile ; utilisé à titre pyrétotherapique, il est capable de provoquer une réaction méningée fébrile, avec lymphocytose ; il se retrouve dans le sang, le liquide céphalo-rachidien, les urines.

Chez le singe et le chien, une méningite à lymphocytes fait suite aux inoculations par certaines voies, même non nerveuse.

Son meilleur réactif est le cobaye, chez lequel il donne après une incubation généralement courte, une température élevée, un amaigrissement notable, des lésions inflammatoires locales, une hypertrophie ganglionnaire, une grosse rate, des zones d'hépatisation pulmonaire. Maladie et lésions du cobaye sont identiques à celles que détermine le virus de la chorio-méningite lymphocytaire, mais l'immunité croisée n'existe pas entre les deux virus.

De plus, on n'a jamais constaté chez la souris inoculée dans le cerveau, le syndrome nerveux caractéristique

chez cet animal de la chorio-méningite lymphocytaire. Quelle que soit la voie d'inoculation, la maladie est à peine apparente, et s'accompagne d'une hypertrophie de la rate, et éventuellement d'épaississement des parois alvéolaires.

L'absence d'immunité croisée chez le cobaye, l'absence du syndrome nerveux chez la souris, font du virus D une entité morbide nouvelle.

La fixation de l'alexine a lieu en présence d'un antigène, poumon de cobaye, par le sérum de convalescents ou d'anciens malades. Elle pourra être utile pour déterminer la part qui revient au virus D dans le groupe des méningites lymphocytaires curables.

Vu et approuvé,

Le Doyen :

LÉPINE.

Vu,

Le Président de la Thèse :

J. CHALIER.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 24 Octobre 1940

Le Recteur, Président du Conseil de l'Université :

A. LIRONDELLE.

BIBLIOGRAPHIE

BAIRD (R. D.) and RIVERS (Th. M.). — *Amer. J. Pub. Health.*, t. XXVIII, 1938, p. 47.

DURAND (Paul). — *Arch. Inst. Pasteur, Tunis*, t. XXIX, 1940, p. 179.

DURAND (P.), GIROUD (P.), LARRIVÉ (E.) et MESTRALLET. — *Arch. Inst. Pasteur, Tunis*, t. XXVI, 1937, fasc. 2, p. 228.

FINDLAY (G. M.), ALCOCK (N. S.) and STERN (R. O.). — *The Lancet*, t. CCXXX, 1936, p. 650.

FRANCIS (Th.) and MAGILL (T. P.). — *J. Exp. Med.*, t. LXVIII, 1938, p. 147.

KREIS (B.). — *Thèse*, Paris, 1937.

LAIGRET (J.) et DURAND (Roger). — *C. R. Acad. Sciences*, t. CCIII, 1936, p. 282.

LÉPINE (P.) et SAUTTER (Mlle V.). — *C. R. Acad. Sciences*, t. CCII, 1936, p. 1624.

LÉPINE (P.), KREIS (B.) et SAUTTER (Mlle). — *C. R. Soc Biol*, t. CXXIV, 1937, p. 420.

LÉPINE (P.), SAUTTER (Mlle) et KREIS (B.). — *C. R. Soc Biol*, t. CXXIV, 1937, p. 422.

LÉPINE (P.) et SAUTTER (Mlle). — *Ann. Inst. Pasteur*, t. LXI, 1938, p. 519.

LÉPINE (P.), MOLLARET et SAUTTER (V.). — *C. R. Soc. Biol*,
t. CXXIX, 1938, p. 925.

MAC CALLUM (F. O.), FINDLAY (G. M.) and MCNAIR SCOTT (T.). —
Brit J. Exp. Path., t. XX, 1939, p. 260.

MOLLARET, LÉPINE et SAUTTER. — *Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp*
Paris, n° 35, 1938, p. 1775.

TRAUB (E.). — *J. Exp. Med.*, t. LXIII, 1936, p. 533.

TRAUB (E.). — *J... Exp. Med.*, t. LXIII, 1936, p. 847.

TABLE DES MATIERES

	PAGES
<i>Origine du virus</i>	9
<i>Etude expérimentale du virus</i>	15
<i>Caractères de l'agent pathogène</i>	61
<i>Distribution dans l'organisme et excrétion du virus..</i>	69
<i>Identité du virus</i>	77
<i>Le virus dans la nature</i>	87
CONCLUSIONS	97
BIBLIOGRAPHIE	99

IMPRIMERIE DE TRÉVOUX

G. Patissier

—
1940

